

# **Prevalência dos indicadores microbiológicos oficiais efectuados em Salsicha Fresca no âmbito do controlo obrigatório**

Uma amostragem de 2007 a 2011

em indústrias da região de Lisboa, Lezíria-Tejo e Oeste.

**José Manuel Monteiro Cunha Almeida da Conceição**

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em  
**Engenharia Alimentar**

Orientador: Professora Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito

Co-orientador: Doutor João Augusto Marques de Almeida

## **Júri:**

**Presidente:** Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

**Vogais:** Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Natália Maria Ferreira Rebelo de Melo Osório, Professora Auxiliar Convidada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor João Augusto Marques de Almeida, Investigador Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.;

Licenciado Luís Raimundo, na qualidade de especialista.

**Lisboa, 2012**



*Este trabalho foi redigido de acordo com o antigo acordo ortográfico.*

## Agradecimentos

Apresento sinceros agradecimentos a todos os familiares e amigos, nomeadamente:

Ao meu Pai;

À minha Esposa;

Às minhas Filhas;

À minha Avó;

À minha Mãe;

À Ana Maria;

À inspiração “celeste” do meu tio e avô;

À confidente Su...

Ao Dr. Gonçalo Ramos das Carnes Valinho, pela sua amabilidade e disponibilidade.

Agradeço igualmente de uma forma especial:

À Professora Doutora **Luísa Brito** Laboratório de Microbiologia, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa;

Ao Doutor **João Almeida** - Investigador Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) - Unidade de Investigação de Produção Animal (UIPA);

À Professora Doutora **Margarida Moldão**, coordenadora de curso de mestrado de Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.

Por último, agradeço...“às dificuldades que a vida traz

e que nos impulsionam ...”

*There will never be a world without Salmonella because it exists in many, many animal reservoirs.... So you can try to avoid getting Salmonella or learn how to fight it.*

*Eduardo Groisman*  
Professor da Universidade de Yale

## Lista de abreviaturas

AESA – Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar  
AFNOR - *Association Française de Normalisation*  
ASAE – Autoridade de Segurança Alimentar e Económica  
ATM – Atmosfera Modificada  
BPF – Boas Práticas de Fabrico  
BPH – Boas Práticas de Higiene  
BIOHAZ – *European Food Safety Authority Biohazard panel*  
CAC – *Codex Alimentarius Commission*  
DGAV - Direcção Geral de Alimentação e Veterinária  
DGS – Direcção Geral de Saúde  
EFSA – *European Food Safety Authority*  
FEFO - *First Expire, First Out*  
FIFO - *First In, First Out*  
HACCP – *Hazard Analysis and Critical Control Points*  
IA – Indústria alimentar  
ICMSF – *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*  
INSA - Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge  
ISO – *Internacional Organization for Standardization*  
LMR'S – Limites Máximos de Resíduos  
NP - Norma Portuguesa  
OMS - Organização Mundial de Saúde  
OUT/INV – Outono/Inverno  
PRI/VER - Primavera/Verão  
SAI – Satisfatório, aceitável, insatisfatório  
SSA - Sistema de Segurança Alimentar  
Teste H – Teste de *Kruskal-Wallis*  
Teste Qui<sup>2</sup> – Teste de *Qui-quadrado*  
UFC – Unidades Formadoras de Colónias  
YOPI - *Young, Old, Pregnant and Immunocompromised*  
WHO – *World Health Organization*

## Resumo

A salsicha fresca é considerada um preparado de carne, e é reconhecida como um possível veículo de *Salmonella* o que pode constituir um perigo para a saúde pública.

De acordo com o regulamento (CE) 1441/2007 a pesquisa deste agente patogénico é obrigatória sendo a sua ausência em 10g de produto considerada satisfatória. O mesmo regulamento fixa igualmente um critério de higiene baseado no nível de *Escherichia coli*, considerada como indicador de contaminação fecal.

A primeira parte desta dissertação compreende uma síntese das características higio-sanitárias da salsicha fresca e sua produção, bem como do sistema de autocontrolo e aspectos legislativos.

Na segunda parte, são analisados os resultados de 1705 amostras reportados a um período de cinco anos (2007 a 2011), em oito empresas fabricantes de salsicha fresca da região de Lisboa, Oeste e Lezíria-Tejo. A segurança alimentar deste preparado de carne é aqui caracterizada.

No contexto da avaliação de resultados, 4,9% foram insatisfatórios para o critério de segurança (*Salmonella*), representando um considerável risco para a saúde pública. Para o critério de higiene (*Escherichia coli*) encontraram-se 76% de resultados satisfatórios, 8% aceitáveis e 16% insatisfatórios. Os resultados insatisfatórios parecem traduzir uma certa inconsistência na aplicação de boas práticas de higiene.

Apresentam-se por fim, algumas sugestões visando a melhoria da segurança microbiológica da salsicha fresca.

**Palavras-chave: Salsicha fresca; *Salmonella*; *Escherichia coli*.**

## Abstract

Fresh sausage is considered a meat preparation, recognized as a vehicle for *Salmonella* and constitutes a danger to public health.

The research of this pathogen is required by European Regulation (EC) 1441/2007, and its absence in 10g of the product is considered satisfactory. The regulation stated, also sets a criterion of hygiene based on the level of *Escherichia coli*, considered the best indicator of fecal contamination.

In the first part of this study was made a summary of sanitary and hygiene features of fresh sausage production as well own-checks system and legislation aspects.

In the second part, are analyze the results of 1705 samples collected over five years (2007-2011), in eight fresh sausage manufacturers installed in Lisbon, west and Leziria-Tejo region . The food safety of meat preparation is characterized here.

In the context of the assessment of results, 4.9 % were unsatisfactory to safety criteria (*Salmonella*), representing a considerable risk to public health. For the hygiene criteria (*Escherichia coli*) it is found 76 % results satisfactory, 8 % acceptable and 16 % unsatisfactory. The unsatisfactory express some inconsistency in the application of good hygiene practices.

It is finally presented some suggestions for improving the microbiological safety of fresh sausage.

**Keywords:** Fresh pork sausage; *Salmonella*; *Escherichia coli*.



## Extended abstract

The diseases caused by several food-borne pathogens are a worldwide public health problem and its prevention is the goal of all societies. The source of those diseases depends of the origin of the food consumed, the procedures, handling and food's storage.

Traditional inspection and sampling / analysis of lots had limitations and have showed inability to ensure food safety. In 1970 was developed the concept of HACCP, which brought a major contribution to safe food production. However, to be successful, it is essential that the HACCP is supported by good hygiene practices that minimize the occurrence of hazards in the product and in the production environment.

In Europe, to achieve an improvement in food safety was established microbiological criteria for raw materials and finished products. Some of those criteria are present in European Union regulations, such as Regulation (EU) n.º 1441/2007 from December, 5<sup>th</sup>), that establish, the frequency, number and size of sampling.

Fresh sausage is considered a meat preparation (Regulation (EU) No 853/2004 of April, 29<sup>th</sup>), recognized as a vehicle for *Salmonella* and constitutes a danger to public health. The research of this pathogen is required by European legislation (Regulation (EU) No 1441/2007) and its absence in 10g of the product is considered satisfactory. The regulation stated, also sets a criterion of acceptability for the hygiene indicator based on the level of *Escherichia coli*, considered the best indicator of fecal contamination.

In the first part of this study was made a summary of sanitary and hygiene features of fresh sausage production and legislation aspects.

In the second part, are analyze the results of 1705 samples collected over five years (2007-2011), in eight fresh sausage manufacturers and seek to characterize the food safety of meat preparation produced in Lisbon, west and Lezíria-Tejo region, through statistical test.

In the context of the assessment of results, 4.9 % were unsatisfactory to safety criteria (*Salmonella spp*), representing an unacceptable risk to public health with considerable gravity caused by the pathogenicity of this infectious agent. However in the five years survey (2007-2011), producers of fresh sausage applied with relative success the European strategy to control *Salmonella*. A significant reduction from 11% to 2% of positive results of this microorganism was found.

For the hygiene criteria (*Escherichia coli*), 76 % results were satisfactory, 8 % acceptable and 16 % unsatisfactory. The unsatisfactory express some inconsistency in the application of good hygiene practices, although, between 2008 and 2011 a reduction of 30% on unsatisfactory results were found.

It was not possible to establish a correlation between *Salmonella* and *E.coli* in this survey. The satisfactory results (90.1%) of hygiene criterion in the plant 3 were not accompanied by similar frequencies of *Salmonella*, where there were 16 positive results for *Salmonella* from 2008 to 2011. On the other hand, in producer 1 was found higher frequencies of hygiene unsatisfactory results (44%) and was only founded six *Salmonella* strains.

The application of good hygiene practices, personal training combined with technical solutions at all stages of the meat chain can enable manufacturers to promote a lower rate of unsatisfactory results.

It is finally presented some suggestions for improving the microbiological safety of fresh sausage.

## Índice

Agradecimentos.....	ii
Resumo .....	v
Abstract .....	vi
Extended abstract.....	vii
Índice de Quadros .....	xi
Índice de figuras .....	xii
1. Introdução.....	1
1.1 Segurança alimentar das carnes frescas e preparados cárneos.....	1
1.2. Enquadramento legal .....	2
1.3. Contaminação alimentar dos preparados de carne.....	4
1.4 Indicadores microbiológicos oficiais para preparados de carne .....	6
1.5. A salmonelose na União Europeia.....	8
1.6. Sistema de segurança alimentar - HACCP .....	9
1.7. Enquadramento e objectivos do trabalho.....	10
2. Caracterização da Salsicha Fresca.....	12
2.1. Definição, características físico-químicas e microbiológicas.....	12
2.2. Tecnologia de fabrico .....	16
2.2.1. Diagrama de fabrico .....	16
2.2.2. Descrição do processo de fabrico.....	17
2.2.3. Tempo de vida útil de salsicha fresca.....	21
3. Materiais e Métodos.....	25
3.1. Caracterização das indústrias alvo do estudo .....	25
3.2. Colheita de amostras.....	26
3.3. Métodos analíticos.....	26
3.4. Caracterização da amostragem.....	28
3.5. Análise estatística de resultados .....	29
4. Resultados e Discussão.....	30
4.1. Distribuição de amostras .....	30
4.2. Pesquisa de <i>Salmonella</i> .....	33
4.2.1. Resultados da EFSA relativos a <i>Salmonella</i> .....	37
4.3. Qualidade microbiológica .....	39
4.3.1 Contagem de microrganismos a 30 °C .....	39
4.3.2. Contagem de <i>Escherichia coli</i> .....	43
4.4. Critério de Higiene.....	48
5. Propostas de Boas Práticas de Fabrico .....	52

6. Conclusões .....	55
7. Bibliografia .....	58
8. ANEXOS.....	II
8.1 ANEXO 1 – Caracterização da Amostragem .....	III
8.2. ANEXO 2 – Caracterização <i>Salmonella</i> .....	IV
8.3. ANEXO 3 – Critério de Higiene .....	VIII

## Índice de Quadros

Quadro 1 – Critérios microbiológicos oficiais para preparados de carne.	3
Quadro 2 – Aditivos da salsicha fresca e Valores Máximos Admitidos	13
Quadro 3 – Microrganismos frequentes na carne de suíno e respectivos parâmetros de crescimento	15
Quadro 4 - Durabilidade da salsicha fresca - Estudo de Ferreira <i>et al</i> (2007).	22
Quadro 5 – Durabilidade da salsicha fresca - Estudo 1	22
Quadro 6 – Durabilidade da salsicha fresca - Estudo 2	23
Quadro 7 – Distribuição das oito empresas por região	25
Quadro 8 – Transposição das amostras para subamostras de conjuntos de 5 resultados (N=5)	28
Quadro 9 - Percentagem de amostras recolhidas por região	28
Quadro 10 - Frequência e distribuição anual de amostras com presença de <i>Salmonella</i> por fábrica	35
Quadro 11 – Prevalência de <i>Salmonella</i> em preparados de carne de porco, número de amostras e respectivas percentagens positivas (dados EFSA).	37
Quadro 12 – Resultado do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens a 30 °C para cada ano	40
Quadro 13 – Resultado do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens 30 °C em relação ao mês	41
Quadro 14 – T Resultado do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens a 30 °C em relação às fábricas	42
Quadro 15 – Resultados do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens de <i>E.coli</i> em relação aos anos	44
Quadro 16 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens de <i>E.coli</i> em relação aos meses	45
Quadro 17 - T Resultados do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens de <i>E.coli</i> em relação às fábricas	46

## Índice de figuras

Figura 1 - Diagrama de fabrico da salsicha fresca	16
Figura 2 – Distribuição anual do número de amostras dos vários testes microbiológicos.	30
Figura 3 – Distribuição mensal do número de amostras dos vários testes microbiológicos.	31
Figura 4 - Número e distribuição de amostras por fábrica dos vários testes microbiológicos.	32
Figura 5 - Frequência global de amostras com resultado positivo e negativo para <i>Salmonella</i>	33
Figura 6 – Número de amostras com resultado positivo para <i>Salmonella</i>	33
Figura 7 – Percentagem de amostras positivas para <i>Salmonella</i>	34
Figura 8 - Resultados positivos de <i>Salmonella</i> por fabricante, em relação ao número de amostras de cada fábrica	35
Figura 9 – Percentagem de resultados positivos por semestre, em relação ao total de amostras	36
Figura 10 – Distribuição da percentagem de resultados positivos por semestre de cada ano (em relação às amostras de cada ano)	36
Figura 11 – Histograma de frequências de valores de contagem de microrganismos a 30 °C	40
Figura 12 – Representação dos valores médios da contagem de microrganismos a 30 °C por ano, respectivos intervalos de confiança e amplitude.	41
Figura 13 – Representação dos valores médios da contagem de microrganismos a 30 °C por mês, respectivos intervalos de confiança e amplitude.	42
Figura 14 – Representação dos valores médios da contagem de microrganismos a 30°C por fábrica, respectivos intervalos de confiança e amplitude.	43
Figura 15 – Histograma de frequências de valores de contagem de <i>E.coli</i>	44
Figura 16 – Representação dos valores médios da contagem de <i>E.coli</i> por ano, respectivos intervalos de confiança e amplitude.	45
Figura 17 – Representação dos valores médios da contagem de <i>E.coli</i> por mês, respectivos intervalos de confiança e amplitude.	46
Figura 18 – Representação dos valores médios da contagem de <i>E.coli</i> por fábrica, respectivos intervalos de confiança e amplitude.	47
Figura 19 – Resultados globais da aplicação do critério de higiene	48

Figura 20 – Distribuição anual dos resultados do critério de higiene	49
Figura 21 - Resultados do critério de higiene em cada fabricante	49
Figura 22 – Resultados do critério de higiene no conjunto dos semestres	50
Figura 23 – Resultados do critério de higiene, por ano e por semestre	51

# 1. Introdução

## 1.1 Segurança alimentar das carnes frescas e preparados cárneos

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a segurança alimentar é uma prioridade da saúde pública, uma vez que só nos Estados Unidos da América, estima-se que ocorram, anualmente, cerca de 5 milhões de casos de doença resultante da ingestão directa de alimentos contendo perigos sanitários (Bernardo, 2006). O envenenamento de origem alimentar é responsável por doenças e é causa de morte, além de provocar incontáveis perdas económicas (Russel e Gould, 2003).

Embora estejam a ser feitos grandes esforços, por parte das entidades governamentais de todo o mundo, no sentido de promover a melhoria da segurança ao longo da cadeia alimentar, a ocorrência de doenças de origem alimentar continua a ser um problema significativo de saúde pública, quer nos países desenvolvidos quer nos países em desenvolvimento (WHO, 2006).

No que concerne à segurança alimentar global, a OMS aponta como principais preocupações as contaminações químicas e a propagação de perigos microbiológicos (incluindo bactérias tais como *Salmonella* ou *Escherichia coli* patogénica). A microbiota dos alimentos está intimamente ligada com a sua composição, e provém das matérias-primas ou é introduzida em qualquer fase do processamento ou armazenamento (Esteves, 2006). Muitos dos organismos que causam doenças ao Homem, são parte integrante da microbiota gastrointestinal normal dos animais dos quais nos alimentamos (Lacasse, 1995)

Anualmente são documentados na Europa, pela *European Food Safety Agency* (EFSA), graves surtos de gastroenterites, sendo a salmonelose a segunda doença mais frequentemente relatada (EFSA, 2012). Na União Europeia, as carnes picadas e preparados de carne são os produtos mais implicados na salmonelose e considerados não conformes relativamente à presença de *Salmonella* (EFSA, 2012).

Para controlar estes perigos, a OMS defende a aplicação de sistemas de segurança alimentar (SSA) para garantir uma inocuidade dos alimentos em toda a cadeia alimentar (WHO, 2008).

O conceito de análise de perigos e controlo de pontos críticos (*Hazard Analysis and Critical Control Points* - HACCP), sendo um SSA tem proporcionado grandes avanços na produção de alimentos seguros. Contudo, para ser bem sucedido, necessita de ser implementado sobre Boas Práticas Agrícolas (BPA) e Boas Práticas de Higiene (BPH), que minimizam a ocorrência de perigos no produto, na produção e no ambiente (ICMSF, 2006).



Como parte da estratégia para diminuir o número de doenças de origem alimentar, a OMS identificou a necessidade de educar todos os intervenientes na cadeia alimentar, incluindo os manipuladores de alimentos e os consumidores. Para este efeito, esta organização promoveu um projecto denominado “5 chaves para a segurança alimentar”: 1. Manter a limpeza; 2. Separar alimentos crus de alimentos cozinhados; 3. Cozinhar bem os alimentos; 4. Manter os alimentos a temperaturas seguras; 5. Usar água e matérias-primas seguras ”

Paralelamente, e a nível Europeu, uma das medidas aplicadas pelas entidades governamentais, para conter as doenças de origem alimentar, foi criar a obrigatoriedade de todos os operadores de alimentos formarem os manipuladores de forma a atingir um dos objectivos expressos na legislação alimentar em vigor que é assegurar a protecção da saúde pública (Regulamento n.º 178/2002 de 28 de Janeiro).

## 1.2. Enquadramento legal

A 1 de Janeiro de 2006, na União Europeia, entraram em vigor os regulamentos europeus n.º 852/2004 e 853/2004 ambos de 29 de Abril de 2004, relativos à higiene dos géneros alimentícios e à higiene dos géneros alimentícios de origem animal, respectivamente, que têm por principal objectivo garantir um elevado nível de protecção da saúde pública, tendo sido redigidos para controlar microrganismos patogénicos chave, como por exemplo *Salmonella* (*Internacional HACCP Alliance*,1994) e *Escherichia coli* O157:H7 (Mead, 2007).

De forma a atingir o grande objectivo das políticas de segurança alimentar, a Comissão Europeia publicou outros regulamentos, além dos nomeados, a saber:

- O Regulamento (CE) n.º 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril, que estabelece regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano;

- O Regulamento (CE) n.º 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 26 de Abril de 2004, que diz respeito aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais.

Paralelamente entrou em vigor o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 de 15 de Novembro, entretanto alterado pelo Regulamento (CE) n.º 1441/2007 de 5 de Dezembro e posteriormente pelo Regulamento (CE) n.º 365/2010 de 28 de Abril que estabelecem os critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

No que diz respeito a carnes picadas e preparados de carne o Regulamento (CE) n.º 1441/2007 não sofreu alterações e define a frequência de amostragem e número de

amostras a analisar, os métodos analíticos de referência, os critérios de aceitação ou rejeição e, em alguns casos, as medidas a tomar em caso de resultados insatisfatórios.

Quadro 1 – Critérios microbiológicos oficiais para preparados de carne.							
Categoria de Alimentos	Microrganismo	Amostragem		Condição de aceitabilidade		Método análise de referência	Fase em que o critério se aplica
		N	C	m	M		
1.6 “... Preparados de carne...”	<i>Salmonella</i>	5	0	Ausência em 10 g		EN/ISO 6579	Produtos colocados no mercado durante o seu período de vida útil
2.1.8 Preparado de carne	<i>Escherichia coli</i>	5	2	500 ufc/g ou cm <sup>2</sup>	5000 ufc/g ou cm <sup>2</sup>	ISO 16649-1	Fim do processo de fabrico
							Melhoria de higiene na produção e da origem das matérias-primas

Adaptado do Regulamento (CE) n.º1441/2007 de 5 de Dezembro – Anexo I Capítulo 1; alínea 1,6 e Capítulo 2; alínea 2.1.8

**Legenda:** **N**- n.º de amostras do lote; **C** – n.º de amostras com valores entre **m** e **M**; **m** – n.º máximo de bactérias por grama; **M** - n.º de bactérias por grama acima do qual uma amostra se torna inaceitável.

O Quadro 1, adaptado do Regulamento (CE) n.º 1441/2007, apresenta os critérios de segurança e higiene, para preparados de carne, sendo interpretado da seguinte forma:

Em cada cinco amostras (**N**), deve-se verificar ausência de *Salmonella* em 10 g de produto – critério de segurança; simultaneamente, verifica-se como critério de higiene as contagens de *Escherichia coli*, cujos valores são considerados satisfatórios se forem menores que 500 unidades formadoras de colónias por grama (ufc/g) (**m**) e aceitáveis se duas (**c**) das cinco amostras tiverem valores inferiores a 5000 ufc/g (**M**). A frequência de amostragem de preparados de carne é inicialmente de 30 semanas consecutivas para a pesquisa de *Salmonella*. Após esse período, caso não se verifique a presença dessa bactéria, a amostragem pode ser quinzenal, variando o dia de recolha. Para o parâmetro *Escherichia coli*, a amostragem inicial é de seis semanas consecutivas, passando a ser quinzenal desde que os resultados sejam satisfatórios (Capítulo 3 do anexo I do Regulamento (CE) n.º1441/2007).

Para produtores de preparados de carne com produção não constante e de baixas quantidades, a frequência de amostragem pode ser isenta, sob autorização da entidade responsável que, no caso dos preparados de carne e em Portugal, é a Direcção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV).

Relativamente a contaminantes químicos, o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 de 19 de Dezembro, alterado pelo Regulamento (CE) n.º 1259/2011 de 2 de Dezembro, fixa o teor máximo de contaminantes presentes nos géneros alimentícios. No que diz respeito à carne de suíno são estabelecidos teores máximos para chumbo (0,1 mg/Kg), cádmio (0,05 mg/Kg). Para o somatório de dioxinas é estabelecido o limite de 1,0 pg/g de gordura. Para dioxinas sob a forma de *Polychlorinated Biphenyls* - bifenilos policlorados (PCB's) o limite máximo é de 1,25 pg/g de gordura e para o somatório de PCB's está fixado como limite máximo 40 ng/g de gordura. Os limites referidos são aplicáveis, na carne de suíno, desde que o teor de gordura no alimento seja superior a 2% (m/m).

No que diz respeito a Limites Máximos de Resíduos (LMR's) de pesticidas no interior e à superfície dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais, de origem vegetal ou animal, a 23 de Fevereiro de 2005, o Parlamento Europeu e o Conselho publicaram o Regulamento (CE) n.º 396/2005 alterado pelo Regulamento (CE) n.º 178/2006 de 1 de Fevereiro, onde se estabeleceu o Anexo I, que indica os géneros alimentícios aos quais se aplicam os LMR's. O Regulamento (CE) n.º 149/2008 de 29 de Janeiro, estabelece os LMR's para os resíduos abrangidos e para os produtos listados no anexo I do Regulamento (CE) 178/2006.

Finalmente, o Regulamento (CE) n.º 2377/90 foi revogado pelos Regulamentos (CE) n.º 470/2009 e pelo Regulamento (CE) n.º 37/2010 sendo que este último disponibiliza os LMR's para as substâncias activas dos medicamentos de uso veterinário (substâncias autorizadas) e define as substâncias proibidas, por constituírem um perigo para a saúde do consumidor.

### 1.3. Contaminação alimentar dos preparados de carne

Segundo o *Codex Alimentarius*, entende-se por contaminação “qualquer agente biológico ou químico, matéria estranha, ou outra substância adicionada sem intenção aos alimentos que possa comprometer a segurança e a adequação dos mesmos” (CAC/RCP 58-2005). O mesmo documento, um perigo é definido como “um agente biológico, químico ou físico nos alimentos, ou as condições em que estes se encontram, com o potencial de causar um efeito adverso para a saúde”.

Nos preparados frescos de carne, considerados no âmbito desta dissertação, são normalmente apontados como exemplos de perigos físicos as agulhas partidas e alojadas nos músculos dos animais, resultantes dos tratamentos veterinários. Ao nível de perigos químicos para o consumidor, considera-se a presença de antibióticos e metais pesados como o cádmio e o chumbo, provenientes de tratamentos sanitários e/ou alimentação

animal, devidamente regulamentados (Regulamento (CE) n.º 1831/2006 e Regulamento (CE) n.º 1259/2011).

Ao nível de perigos biológicos, Lacasse (1995) refere que os animais possuem uma microbiota bem estabelecida e estável e são um veículo de grande número de microrganismos, especialmente nas patas, na pele e nos pêlos provenientes do solo, das matérias fecais, da água, do ar, da alimentação, dos insectos e dos roedores. Além disso, os animais albergam um elevado número de microrganismos nas suas vias respiratórias e digestivas.

A maioria das bactérias patogénicas encontradas na carne crua tem origem nos respectivos animais, sendo comumente assumido que os patogénios entéricos encontrados na carne são em grande parte resultantes da matéria fecal dos animais infectados (Sofos, 2005). A *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1986) conclui que a presença de *Salmonella* em matérias-primas cárneas é, geralmente, um reflexo da sua incidência no animal vivo e não apenas resultante da quebra dos protocolos de higiene.

Sales *et al.* (2006) indicam, ainda, que as carnes frescas são uma importante fonte de *Clostridium perfringens* e *Salmonella*, sendo a sua principal proveniência, o tracto intestinal do suíno (Sofos, 2005), tendo também já sido isoladas na região entérica, do mesmo animal, estirpes patogénicas de *E.coli* (Sales *et al.*, 2006).

*Salmonella* pode sobreviver no solo por vários meses (Sprenger, 2002), além de ser detectável no tracto gastrointestinal, pode ser pesquisada no mesentério, gânglios linfáticos hepáticos, nas amígdalas, nos nódulos linfáticos da região submandibular e, por vezes, na vesícula biliar, no fígado e no baço dos suínos (Sofos, 2005). Este é o motivo pelo qual Lacasse (1995) refere ser durante o abate, a evisceração e o corte das carcaças que os germes das superfícies e das vísceras contaminam a carcaça, de forma mais ou menos significativa, dependendo do rigor com que as diversas operações são executadas e das medidas de higiene adoptadas. Sofos (2005) afirma, igualmente, que carcaças de animais relativamente inócuas podem ficar infectadas, por via de contaminação cruzada, por contacto com mãos contaminadas de trabalhadores, de equipamentos ou pelo contacto directo com carcaças contaminadas. A ICMSF suporta assim que a prevenção da ocorrência de *Salmonella* e outros patogénios nas carnes não pode ser prevenida inteiramente pela aplicação de protocolos ou códigos de higiene, sendo fundamental ter presente que, por melhores que sejam as práticas sanitárias na produção primária, e transformações seguintes, é impossível eliminar todos os agentes patogénicos presentes nos alimentos crus (ICMSF, 2006).

## 1.4 Indicadores microbiológicos oficiais para preparados de carne

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 1441/2007, para os preparados de carne, os critérios microbiológicos usados como indicadores de segurança e de higiene são, respectivamente, *Salmonella* e *Escherichia coli*. Como tal importa caracterizar ambos os indicadores. Em ambos os casos estamos perante *Enterobacteriaceas* que se apresentam como bactérias Gram-negativas, anaeróbias facultativas, de origem fecal, que fermentam a glucose e são oxidase-negativas (Mead, 2007).

### ***Salmonella***

*Salmonella* é reconhecida como um importante microrganismo patogénico para animais e humanos (EFSA, 2010), sendo a sua principal origem a contaminação fecal (Soares, 2003).

A salmonelose humana é normalmente caracterizada por febre, náuseas, dor abdominal e vômitos associados à desidratação, e por poder originar sequelas crónicas, como a artrite. O período de incubação pode, nos casos mais agudos, ser de apenas 12 horas, ou até 4 a 5 dias em casos menos graves, sendo que os sintomas e a infecção duram, geralmente, alguns dias (Soares, 2003).

A mortalidade derivada de *Salmonella* é geralmente baixa e menos de 1% dos casos tornaram-se fatais (EFSA, 2012).

A dose infecciosa depende da idade e da saúde do hospedeiro, bem como das diferentes estirpes. Lacasse (1995) e Sprenger (2002) referem que a doença alimentar se declara se for efectuada a ingestão de um grande número de bactérias viáveis (cerca de  $10^6$ ), uma vez que o processo digestivo pode não eliminar determinadas células, que se multiplicam, posteriormente, no intestino penetrando nas suas paredes e causando diarreia (Sprenger, 2002).

Lacasse (1995) e a EFSA (2010) indicam que a incidência de salmoneloses é muitas vezes cíclica, atingindo um ponto máximo nos meses de Julho a Setembro, quando a temperatura ambiente é mais propícia ao desenvolvimento bacteriano nos alimentos. Contudo, *Salmonella* pode multiplicar-se numa gama de temperaturas situada entre 7º e 45 ºC (Sprenger, 2002).

Toldrá (2010) indica que o tempo necessário para reduzir um ciclo logarítmico de *Salmonella* é de 1,91 minutos, à temperatura de 65 ºC ( $D_{65\text{ }^{\circ}\text{C}}=1,91\text{ min}$ ), e que a 70 ºC apenas é necessário 0,083min ( $D_{70\text{ }^{\circ}\text{C}}=0,83\text{ min}$ ). Soares (2003), aponta que, a *Salmonella* é uma bactéria termolábil sendo eliminada na totalidade com aquecimentos de 80 ºC durante 2 a 3 minutos.

*Salmonella* não é especialmente resistente aos desinfetantes usados na indústria alimentar, mas tal como muitas outras bactérias, é capaz de formar biofilmes, o que pode reduzir a eficácia dos desinfetantes, se a higienização for inadequada (Curtis, 2007).

### ***Escherichia coli***

*Escherichia coli* é uma bactéria da família *Enterobacteriaceae* e apenas uma minoria das estirpes tem a capacidade de causar doença nos humanos. Encontram-se normalmente na microbiota intestinal do Homem e de diversos animais (Lacasse, 1995). Bactérias desta família são comumente encontradas em produtos relacionados com a carne, entre os quais a carne de porco (Jay, 2005).

*Escherichia coli* pertence ao grupo dos coliformes fecais (Jay, 2005), pesquisados a 44,5 °C (Ramos, 2006) e, foi considerada um bom indicador de contaminação fecal. Como tal, tem sido usada como indicador de higiene. Ramos (2006) afirma que 90% dos coliformes fecais são *E.coli* biótipo I (não patogénica), sendo que os restantes 10% são *Enterobacter* e *Klebsiella*. Estes números apontados por Ramos (2006) vão de encontro aos resultados de Jay (2005) em que, numa amostragem de 442 amostras de carne de porco 86% continham *Enterobacteriaceae*s, sendo a mais representada a *E. coli* biótipo I (29%).

A gama de temperaturas de crescimento de *E.coli*, varia entre os 10 e os 50 °C, sendo eliminada com temperaturas de 70 °C durante 2 minutos (<http://www.foodsafetywatch.com>).

Os diferentes serótipos de *E. coli* são diferenciados com base nos antígenos somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (K) (Lacasse, 1995) e têm sido responsabilizados por patologias de alta gravidade para o Homem, entre os quais os produtores de toxinas “Shiga-like Toxines” (SLT) (Sales *et al.*, 2006) que causam diarreia acompanhada por dores abdominais severas. São, ainda classificadas com base nos seus factores de virulência, mecanismos de patogenicidade e sintomas clínicos. Entre as estirpes responsáveis por toxinfecções alimentares, evidencia-se a *Escherichia coli* “verotoxinogénica” (VTEC ou SLT<sup>+</sup>) com diferentes serótipos. O relatório da EFSA com dados de 2010 indica que a maioria dos surtos humanos derivados da *E.coli* VTEC, estão associados ao serótipo O157.

A presença de *E. coli* biótipo I (não patogénica) em produtos cárneos, não significa a existência de presença de *E. coli* patogénicas ou que exista uma relação directa entre o número de *E. coli* e as VTEC uma vez que Jay (2005) concluiu que após uma investigação em 442 amostras de carne de porco, existia uma fraca correlação entre *E. coli* biótipo I e *E. coli* O157:H7 além de que, na contagem de *E. coli*, não são consideradas as estirpes enterotoxinogénicas e enteropatogénicas (ETEC e EPEC) uma vez que estas não possuem a enzima  $\beta$  – D- glucuronidase característica da *E. coli* biótipo I (Sales *et al.*, 2006).

As formas patogénicas de *E. coli* apresentam doses infecciosas muito baixas, na ordem de 10 a 100 microrganismos (revisto por Pedroso *et al.*, 2004).

A cocção completa dos alimentos é a recomendação mais importante para o seu controlo (Lacasse, 1995).

Para formas patogénicas como a *E. coli* 0157:H7, o tempo necessário para causar uma redução de 90% do número de bactérias é inferior a 1 minuto entre 65 e 70 °C ( $D_{65\text{ °C}} = 0,8\text{min}$  e ( $D_{70\text{ °C}} = 0,048\text{min}$ )] (Toldrá, 2010).

### 1.5. A salmonelose na União Europeia

A *European Food Safety Authority* (EFSA) é responsável pela análise dos dados sobre zoonoses, resistência antimicrobiana e surtos de origem alimentar apresentados pelos Estados-Membros, em conformidade com a Directiva 2003/99/CE do Parlamento e do Conselho de 17 de Novembro de 2003.

Nos relatórios anuais da EFSA consultados (2007-2010), verifica-se um decréscimo do número de casos de salmonelose, mas todos apontam a salmonelose como a segunda doença zoonótica mais frequentemente relatada, logo a seguir às doenças alimentares derivadas de *Campylobacter* (campilobacteriose).

No ano de 2004, foram reportados 195.947 casos, em 2006 166.819 e em 2010 os casos confirmados na União Europeia (UE) apontam para os 99.020.

No que diz respeito a Portugal, registaram-se 220 casos de salmonelose, no ano de 2010, o que corresponde a 2,1 casos/100.000, sendo a média Europeia de 23,7 casos/100.000 (ASAE, 2011).

Os relatórios anuais da EFSA, concluem que as doenças de origem alimentar com origem em *Salmonella*, continuam a ser responsáveis por elevados níveis de morbilidade e mortalidade na população, especialmente nos grupos de risco (YOPI - *Young, Old, Pregnant and Immunocompromised*), uma vez que a maior taxa de notificação de casos humanos foi para os grupos etários dos zero aos quatro e dos cinco aos catorze anos, havendo um acréscimo de casos de salmonelose, entre Agosto e Setembro, seguido de um rápido declínio nos meses de Inverno, sendo este padrão comum a todos os grupos etários (EFSA, 2012).

A maioria dos surtos alimentares em Portugal e na Europa, por *Salmonella*, parecem estar associados, maioritariamente, ao consumo em casa do consumidor (ASAE, 2011). Um factor que provavelmente pode contribuir para casos de salmonelose, é a crescente utilização do “take-away”, que incorrectamente praticado, em termos de acondicionamento dos alimentos a temperaturas incorrectas, pode causar doença alimentar. Outras causas

prováveis serão a procura pelo consumidor de alimentos minimamente processados e a insuficiente cocção dos mesmos, bem como a contaminação cruzada entre produtos alimentares cozinhados e crus, e ainda a não realização de diversas medidas de higiene, sendo provavelmente a mais importante, a incorrecta higienização das mãos.

No capítulo relativo à discussão de resultados, apresentam-se-ão dados relativos aos preparados de carne, em Portugal e na União Europeia, e a comparação desses valores com os resultados de análises microbiológicas feitas a salsicha fresca, recolhidas para realização desta dissertação.

## 1.6. Sistema de segurança alimentar - HACCP

O sistema HACCP foi originalmente desenvolvido pela *Pillsbury Company*, em colaboração com a NASA e os laboratórios do Exército dos EUA, para assegurar a segurança microbiológica dos alimentos fornecidos ao programa espacial (missão APOLLO) (*Internacional HACCP Alliance*, 1994). Este sistema assume-se, actualmente, como uma importante ferramenta na protecção alimentar, consistindo num método preventivo, que identifica os perigos específicos e as medidas preventivas para o seu controlo, que podem ser aplicadas em todas as etapas de produção e ao longo de toda a cadeia alimentar, desde a produção primária até ao consumidor final, devendo a sua implementação orientar-se pela evidência científica de riscos para a saúde pública (CAC, 2003).

Antes da aplicação de um sistema HACCP devem estar implementados, e em pleno funcionamento, os seus pré-requisitos que são definidos como os procedimentos universais, que controlam as condições ambientais de um estabelecimento alimentar, contribuindo para uma melhor segurança dos produtos (Van Schothorst, 2004).

Consideram-se como pré-requisitos as instalações e equipamentos e planos de higienização associados (limpeza e desinfecção); boas práticas de higiene de manipulação; saúde e higiene dos manipuladores e sua formação; controlo de fornecedores; controlo de resíduos; controlo de pragas; qualidade da água; manutenção da cadeia de frio.

Após a implementação e cumprimento destes pré-requisitos, pode-se avançar com a implementação do sistema HACCP, cujo êxito reside na sua completa adequação à realidade da empresa (Van Schothorst, 2004).

Actualmente, todas as empresas do sector agroalimentar estão obrigadas a implementar sistemas de segurança alimentar baseados nos sete princípios do sistema HACCP [Regulamento (CE) n.º 853/2004 com base no *Codex Alimentarius* CAC/RCP 1-1969 Rev. 4 – 2003], a seguir descritos:

- **Princípio 1**

Realizar uma análise de perigos.



- **Princípio 2**

Determinar os pontos críticos de controlo (PCC's).

- **Princípio 3**

Estabelecer limites críticos.

- **Princípio 4**

Estabelecer um sistema para monitorizar o controlo dos PCC's.

- **Princípio 5**

Estabelecer as medidas correctivas a tomar quando a monitorização indicar que um PCC está fora de controlo.

- **Princípio 6**

Estabelecer procedimentos de verificação para confirmar que o sistema HACCP funciona eficazmente.

- **Princípio 7**

Estabelecer um sistema de documentação sobre todos os procedimentos e para os registos apropriados para estes princípios e sua aplicação.

A verificação do sistema HACCP consiste em métodos, procedimentos e testes utilizados para determinar a aplicação do plano e o seu eficaz funcionamento (Jay 2005). Uma das formas de aferir as boas práticas de fabrico, as boas práticas de higiene e a correcta aplicação do plano HACCP é através do cumprimento dos critérios microbiológicos (artigo 4º do Regulamento (EC) 852/2004). Mead (2007) reforça que as análises microbiológicas assumiram uma nova importância na relação com o sistema HACCP, apresentando um papel de monitorização, verificação e validação dos procedimentos para controlo de processo. Além disso, os testes microbiológicos com “amostragem aleatória” (CAC/RCP 1-1969, Rev.4 - 2003), e consequentes resultados, passaram a demonstrar a adequabilidade do produto em comparação aos parâmetros exigidos por lei, por valores guia e/ou por especificações próprias (Mead, 2007).

A aplicação assente no princípio 6 do sistema HACCP tem como alvo obter evidência de que existe capacidade de produzir de forma consistente alimentos são e seguros “e deve ser executada por pessoa diferente da responsável pela realização da monitorização e das acções correctivas” (CAC/RCP 1-1969, Rev.4 - 2003).

## 1.7. Enquadramento e objectivos do trabalho

Os preparados de carne, nos quais se insere a salsicha fresca, estão definidos no Decreto-Lei n.º 62/96 de 25 de Maio alterado pelo Decreto-Lei 556/99 de 16 de Dezembro, e no Regulamento (CE) n.º 853/2004, como produtos constituídos por carne da espécie suína, própria para consumo humano (Portaria n.º 971/94 de 29 de Outubro), à qual se tenham

adicionado géneros alimentícios, condimentos ou aditivos, ou que tenha sido submetida a um tratamento insuficiente para alterar a estrutura celular interna da carne e, desse modo, não fazer desaparecer as características da carne fresca. Por outro lado, a Norma Portuguesa (NP) 723 de 2006 considera a salsicha fresca como um preparado de carne destinado a ser consumido cozinhado.

Aos preparados de carne estão associados diversos perigos alimentares. No grupo das estirpes de microrganismos patogénicos que podem ocorrer neste tipo de produtos frescos encontra-se *Salmonella* (Zeuthen e Bugh-Surensen, 2003).

No Quadro 1, e no texto explicativo em 1.2, foi referida a obrigação de realizar controlo analítico [Regulamento (CE) n.º 1441/2007 de 5 de Dezembro (Anexo I; Capítulo 1; alínea 1.6 e Capítulo 2; alínea 2.1.8)], avaliando-se a segurança dos preparados de carne pesquisando *Salmonella* e enumerando *Escherichia coli* de forma a avaliar a qualidade higiénica dos produtos (Jay, 2005).

No capítulo 2, secção 2.2.3, é discutida a durabilidade da salsicha fresca com recurso a dois estudos de dois produtores independentes.

Tendo em atenção o reduzido período comercial a salsicha fresca e apesar de existirem métodos rápidos de pesquisa de microrganismos, quando se dispõe dos resultados das análises, já os preparados de carne se encontram no circuito de distribuição ou na posse do consumidor. Esta situação torna difícil o cumprimento do Regulamento (CE) n.º 178/2002 de 28 de Janeiro, que obriga igualmente que produtos não seguros, não sejam colocados no mercado (ponto 1 do artigo 14º da secção 4), e obriga à recolha de produtos que possam representar perigo para a saúde pública (ponto 1 do artigo 19º da secção 4), uma vez que a baixa durabilidade do produto em fresco não permite realizar essa recolha, em tempo útil.

Neste contexto, pretendeu-se face aos actuais critérios de segurança e higiene, avaliar os resultados reunidos de 1705 amostras de salsichas frescas produzidas por oito empresas na região da grande Lisboa, região da península de Setúbal, região da Lezíria-Tejo e Região Oeste, no período de 2007 a 2011.

Na primeira parte, caracteriza-se o universo das amostras trabalhadas, seguida dos resultados relativos à *Salmonella* e a respectiva comparação com os resultados publicados pela EFSA. Na segunda parte avalia-se a qualidade bacteriológica da salsicha fresca comparativamente com valores de referência de carnes picadas e preparados de carne. O critério de higiene (*E.coli*) é avaliado numa terceira parte deste estudo.

Na última parte deste trabalho são apresentadas propostas de melhoria ao nível das práticas e do processo produtivo que poderão ser relevantes no controlo da microbiota patogénica e de alteração na salsicha fresca.

## 2. Caracterização da Salsicha Fresca

### 2.1. Definição, características físico-químicas e microbiológicas.

A NP723 de 2006 define a salsicha fresca como um enchido cru, de massa granulosa, constituído por carne e gordura de suíno fresca, adicionadas de condimentos (sal refinado e especiarias) e aditivos, nomeadamente antioxidantes, aromatizantes, emulsionantes, estabilizadores do equilíbrio físico, reguladores de acidez, intensificador de sabor, conservantes, água potável e corantes. O formato da salsicha fresca é cilíndrico com diâmetro e comprimento variável, sendo apresentado em cadeia, por simples torção de tripa natural de ovino. Organolepticamente a salsicha fresca apresenta-se de cor rosada, brilhante e de aspecto marmoreado. Sendo esta última característica mais perceptível sempre que se realiza uma avaliação do interior do enchido ao corte, onde se verifica um contraste de cor-de-rosa e branco, resultante da presença de carne e gordura, respectivamente.

Em termos de características físico-químicas, a NP726 indica que o produto deve conter no mínimo, 11% de proteína total, 30% de gordura livre máxima e a humidade do produto desengordurado não deve ser superior a 84%. Pode ainda conter proteínas não cárneas, no máximo de 5% relativamente ao total de ingredientes.

Em termos de aditivos permitidos, poderão ser encontrados na salsicha fresca os constantes do Quadro 2. A parte B do anexo III do Decreto-Lei n.º363/98 de 19 de Novembro e o Decreto-Lei n.º 33/2008 de 25 de Fevereiro estabelecem o Valor Máximo Admitido (VMA) para cada aditivo. Os corantes passíveis de ser utilizados são regulados pelo anexo III do Decreto-lei 120/2011 de 28 de Dezembro.

Por consulta de mercado, realizada a 7 de Julho de 2012, os aditivos mais utilizados pelos fabricantes são: Corantes (E120 – Cochonilha); Antioxidantes (E301 – L-ascorbato de sódio e E331 – Citratos de sódio); Estabilizadores do equilíbrio físico (E452 – Polifosfatos) e Conservantes (E223 - Metabissulfito de sódio). Encontra-se ainda descrito, na rotulagem de diversos fabricantes o uso de aroma de carne e intensificadores de sabor (E621 – Glutamato monossódico).

Quadro 2 – Aditivos da salsicha fresca admitidos na NP723 de 2006 e respectivos Valores Máximos Admitidos (VMA)	
Aditivo (NP723 – 2006)	VMA (mg/Kg) <sup>1</sup>
<b>Corantes</b>	
E100 – Curcumina	20 mg/Kg
E120 – Cochonilha, carminas, ácido carmínico	100 mg/Kg
E160c – Extrato de pimentão	10 mg/Kg
E162 – Vermelho de beterraba, betamina	Quantum satis
<b>Conservantes</b>	
E221 -Sulfito de sódio	450 mg/kg expresso em SO <sub>2</sub> (Valor máximo admitido de todas as origens)
E223 - Metabissulfito de sódio	
E224 - Metabissulfito de potássio	
<b>Antioxidantes e sinérgicos</b>	
E300 – Ácido L-ascórbico	Quantum satis
E301 – L-ascorbato de sódio	
E302 – L-ascorbato de cálcio	
E330 – Ácido cítrico	
E331 – Citratos de sódio	
E332 – Citratos de potássio	
E333 – Citratos de cálcio	
<b>Aromatizantes</b>	
Substâncias naturais ou idênticas às naturais - Sem restrição	
<b>Emulsionantes, estabilizadores do equilíbrio físico e reguladores de acidez</b>	
E339 – Fosfatos de sódio	Máximo 5 g/kg
E340 – Fosfatos de potássio	
E341 – Fosfatos de cálcio	
E450 – Difosfatos	
E451 – Trifosfatos	
E452 – Polifosfatos	
<b>Intensificador de sabor</b>	
E621 – Glutamato monossódico	Sem restrição

<sup>1</sup> VMA estabelecidos pelo Decreto-Lei n.º363/98 de 19 de Novembro e Decreto-Lei 33/2008 de 25 de Fevereiro. Os corantes são regulados pelo Decreto-lei n.º120/2011 de 28 de Dezembro.

Em termos da durabilidade comercial deste tipo de produtos é usual a adição de metabissulfitos sob a forma de sal, que tem por objectivo a criação de uma barreira ao desenvolvimento de microrganismos presentes no produto. Este tipo de aditivo apresenta a capacidade de reduzir o crescimento da microbiota de alteração e limitar o crescimento de *Salmonella* (Sprenger, 2002), aumentando o período de vida útil. Além disso, são sequestradores de oxigénio e potenciadores da cor, uma vez que, possuem a capacidade de “fixar a cor vermelha” (Lacasse, 1995), contribuindo para conferir uma apresentação mais do agrado do consumidor. Por outro lado, sendo as salsichas frescas um produto que se consome após tratamento térmico, uma grande parte do dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) que se desenvolve no produto é eliminado durante a confecção (Lacasse, 1995).

Os produtos preparados de carne frescos são considerados como muito perecíveis, apresentando uma reduzida vida útil comercial. Este facto reflete as características intrínsecas da carne, nomeadamente em termos de valores de  $a_w$  superiores a 0,98 e de pH compreendidos entre 5,5 e 5,6 (Prandal *et al.*, 1994). A durabilidade dos preparados de carne também é, igualmente, influenciada pela qualidade das matérias-primas e pelas operações unitárias de corte e mistura, necessárias para a elaboração do produto (Davies, 1998). Na picagem/corte, ocorre uma dispersão da carga microbiana superficial, por todo o volume de massa carnea. Adicionalmente, a superfície de exposição aumenta, o que favorece quer o processo de recontaminação quer o de desenvolvimento microbiano pela disponibilidade de oxigénio. As condições de pH,  $a_w$  e aerobiose referidas constituem condições extremamente favoráveis para o crescimento de microrganismos patogénicos e de alteração neste tipo de preparados cárneos.

Relativamente à microbiota patogénica, ela tem origem essencialmente na manipulação, encontrando-se provavelmente *Staphylococcus* spp., ou nas diversas operações do processo de abate e pode levar à presença de *Enterobacteriaceas* como *Salmonella* e *Escherichia coli*. Neste grupo da microbiota patogénica, podem ainda encontrar-se psicotróficos como *Yersinia* spp. e *Listeria monocytogenes* (Sofos, 2005).

Os parâmetros intrínsecos da carne referidos e o uso de refrigeração associado às carnes frescas delimitam o crescimento de microbiota psicotrófica de alteração da carne (e.g.: *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Moraxella*) (Prandal *et al.*, 1994).

Para a salsicha fresca, pode-se considerar que a origem da sua microbiota está estritamente relacionada com a contaminação da carne. Esta pode ter diversas origens: o estado sanitário do animal, o método de abate e a higiene dos manipuladores e equipamentos (Zeuthen e Bùgh-Sùrensen, 2003). O Quadro 3 apresenta alguns dos microrganismos mais comuns na carne e, consequentemente, previsíveis de serem encontrados em salsicha fresca.

**Quadro 3 –** Microrganismos mais frequentes na carne de suíno e respectivos parâmetros de crescimento (adaptado de Zeuthen e Bùgh-Sùrensen, 2003)

Microrganismo		Parâmetros de crescimento		
Género	A/P	Temperatura mínima (°C)	pH mínimo	Dependência de oxigénio
<i>Salmonella</i>	P	6,0	4,0	AF
<i>Listeria monocytogenes</i>	P	-0,4	5,0	AF
<i>Staphylococcus</i> spp.	P	6,7	4,0	AF
<i>Escherichia</i> (não patogénica)	A	7	4,4	AF
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	A	0	4,6	AF
<i>Pseudomonas</i> spp.	A	-0,5	5,0	AE

**Legenda:** A - Alteração; P – Patogénico; AF – Anaeróbio facultativo; AE – Estritamente aeróbio

A conservação e distribuição da salsicha fresca devem ser realizadas sob condições de temperatura controlada entre 0 e +4 °C [NP723 e Regulamento (CE) n.º 853/2004 (capítulo III ponto 2 alínea c) subalínea i)].

## 2.2. Tecnologia de fabrico

### 2.2.1. Diagrama de fabrico

Na figura 1 está representado um fluxograma geral de fabrico de salsicha fresca.

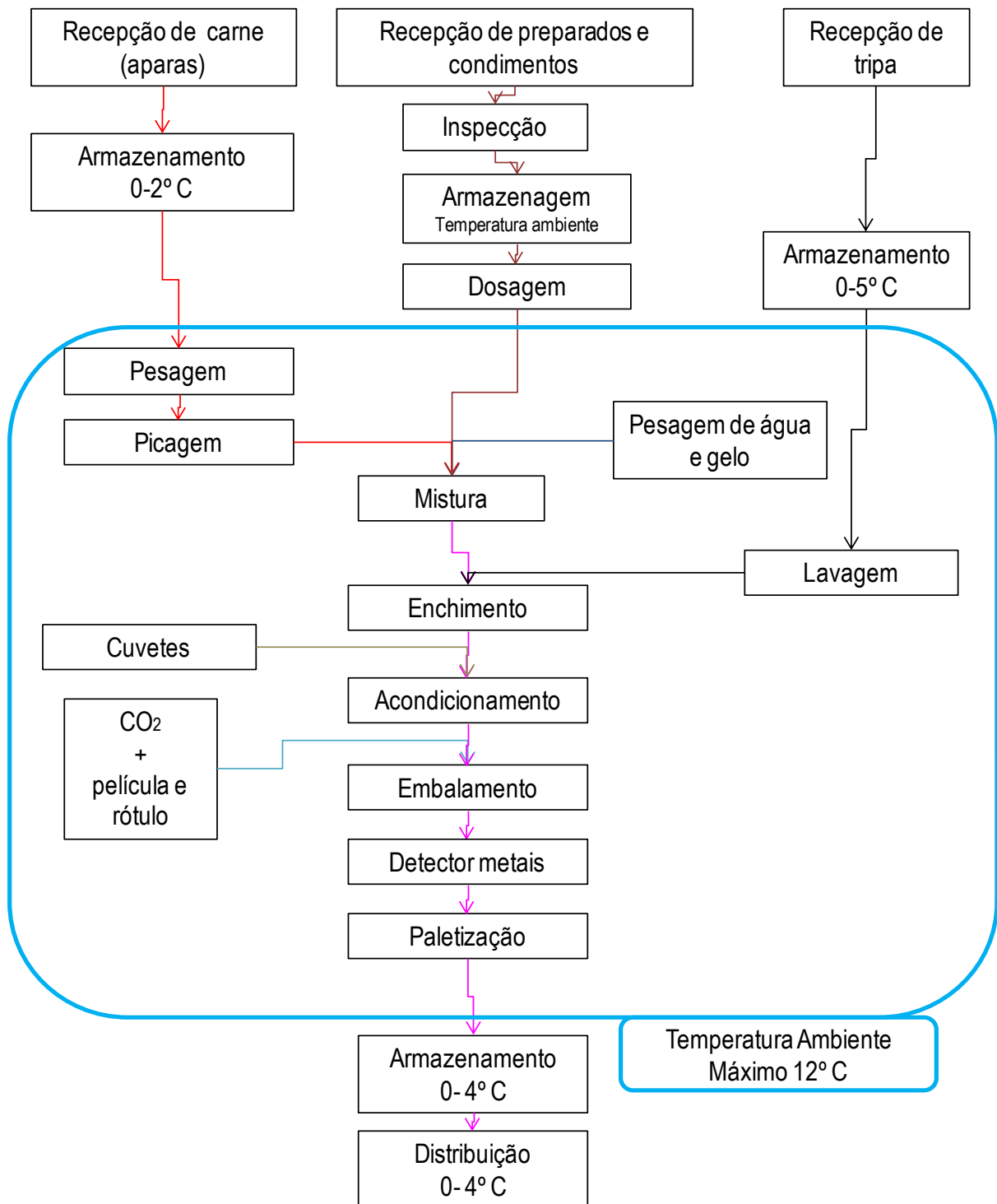


Figura 1: Diagrama de fabrico da salsicha fresca

FONTE: Carnes VALINHO

## 2.2.2. Descrição do processo de fabrico

### **a) Recepção de matérias-primas e subsidiárias**

No momento de recepção, deverá ser verificado o aspecto geral das aparas de carne e controladas, visualmente, as condições de higiene do transporte solicitando igualmente o talão de registo das temperaturas da caixa de carga. O acto de recepção deverá ser registado, mantendo-se o lote de origem ou atribuindo-lhe um lote interno, de forma a manter a rastreabilidade do processo. Nas restantes matérias-primas (tripa, aditivos, sal e alho) deverão ser verificadas as condições de embalagem, nomeadamente a sua integridade e a rotulagem (identificação de lote e indicação das datas de durabilidade mínima), procedendo-se igualmente a um registo.

### **b) Conservação das matérias-primas**

O armazenamento das matérias-primas deverá ser executado de forma a garantir a salubridade do produto final. No caso particular da carne, o seu armazenamento deve ser efectuado de acordo com o estado físico em que foi adquirida, ou seja à temperatura de refrigeração (0 °C a +2 °C) ou de congelação (-22 °C a -18 °C) [Decreto lei n.º 62/99]. A rotação de stocks de matéria-prima deve respeitar a regra *First In, First Out* (FIFO) ou em alternativa a regra *First Expire, First Out* (FEFO). A câmara de armazenamento deve ser única e exclusiva para carnes a utilizar em salsicha fresca e preparados de carne, e deve ser higienizada frequentemente.

Os aditivos em geral deverão ser conservados em local fresco e seco, sobre paletes plásticos ou estantes que permitam uma eficaz higienização.

As tripas de ovino devem ser conservadas à temperatura de refrigeração, igualmente sobre paletes plásticos e em câmara própria para o efeito.

### **c) Operações unitárias de picagem, mistura e enchimento**

Antes do início da produção, deverá ser realizada e registada uma desinfecção de todo o equipamento que irá contactar com o produto. A aplicação desta prática preventiva vai de encontro ao Decreto-lei n.º 556/1999 de 16 de Dezembro (artigo 7º alínea 1 e subalínea b do capítulo IV) que indica a obrigatoriedade de controlar a sanitização. Após a operação de desinfecção, transporta-se a carne da câmara de armazenamento para o local da laboração, sendo imediatamente pesada, a fim de se dar início à picagem.



Os aditivos e condimentos são pesados de acordo com as instruções de fabrico do produto e incorporados na operação de mistura, assim como a água/gelo previamente quantificada. A adição de água tem como função principal auxiliar a mistura dos diversos ingredientes, contribuindo igualmente para aumentar o rendimento do produto. A eventual adição de gelo tem como objectivo reduzir a temperatura da massa, diminuindo a possibilidade de proliferação da microbiota presente.

A operação de mistura pode ser realizada em condições de vácuo parcial. Esta possibilidade tecnológica tem como objectivos reduzir a presença de oxigénio no interior da massa e auxiliar a compactação final da salsicha.

Os ingredientes normalmente utilizados são o sal e o alho (e.g.: pó, granulado, massa). Podem ainda ser adicionadas diversas especiarias e outros aditivos (Quadro 2) normalmente na forma de pré-misturas contendo antioxidantes, conservantes, corantes por forma a facilitar a sua quantificação e dispersão.

O sal é o ingrediente mais comum e actualmente o principal saborizante da indústria cárnea, sendo essencial para a formulação destes produtos. Ao ser promotor de alterações físico-químicas no tecido muscular e adiposo, o que contribui para a consistência dos enchidos e contribui, marginalmente, para a redução do valor de  $a_w$  (Prandal *et al.*, 1994). Johnson e Vaughn (1969) atribuíram ao alho um carácter bacteriostático, derivado da presença de componentes voláteis de dissulfureto (n-propilo dissulfureto de alilo e di-n-propil dissulfureto).

O enchimento é executado para o interior de tripa de ovino previamente dessalinizada com água corrente. Ao submeter a massa a condições de vácuo, induz-se no produto final/ interior da tripa um ambiente micro-aerofílico. Apesar destas condições, Davies e Board (1998) afirmam que os microrganismos de alteração, como *Pseudomonas* spp. e *Enterobacteriaceae* continuam presentes e em competição. Contudo Jay (2005) afirma que o  $SO_2$  é bacteriostático relativamente a *Acetobacter* spp. nas concentrações de 100 a 200 ppm.

#### **d) Embalagem**

Após o enchimento, o produto é acondicionado manualmente em *cuvetes* de materiais próprios para o contacto com alimentos [e.g.: *polipropileno (PP)* *poliestireno (PET)*]. Esta operação é de extrema importância para a qualidade e segurança do produto final. O cumprimento de boas práticas de higiene quer dos manipuladores, quer do ambiente e do próprio material de embalagem, é essencial por forma a não comprometer a durabilidade e a segurança do produto. As *cuvetes* contêm, normalmente, no seu interior uma película absorvente cujo objectivo é reter eventuais exsudados das salsichas que poderiam facilitar o

desenvolvimento microbiano e por sua vez comprometer o respectivo período de vida útil comercial. As *cuvetes* são fechadas com película plástica e nalgumas empresas é ainda efectuada a modificação da atmosfera interior, de modo a aumentar a capacidade de conservação.

Em carnes frescas, uma atmosfera com reduzido teor em oxigénio pode levar a um escurecimento associado à modificação do estado da mioglobina, com incremento da metamioglobina, por isso Lacasse (1995) recomenda utilizar uma atmosfera rica em oxigénio, aumentando ao mesmo tempo o teor de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e Prandal *et al.* (1994) indicam uma mistura de 66 a 80% de oxigénio e de 34 a 20% de CO<sub>2</sub>.

A salsicha fresca pode, em alternativa, ser acondicionada em caixas, a granel sendo neste caso porcionadas em rosário ou trança. O Decreto-lei n.º 560/1999 de 19 de Dezembro estabelece que esta alternativa de acondicionamento da salsicha fresca, sem embalagem, possa ser realizada, desde que assegure uma eficaz protecção durante o transporte e manipulação, não ocorrendo exposição do preparado a substâncias nocivas à saúde humana e assegurando a não alteração das características organolépticas.

A rotulagem do produto, para qualquer condição de embalagem, é efectuada de acordo com o Decreto-lei n.º 560/99 de 18 de Dezembro, e no rótulo é expresso obrigatoriamente “a fim de informar o consumidor, da necessidade de cozedura completa antes do consumo” (artigo 6º alínea 1 do Regulamento 2073/2005 de 15 de Novembro).

#### **e) Detecção de Metais**

O processo de elaboração da salsicha fresca termina normalmente com a passagem do produto num detector de metais, para assegurar a ausência de metais (ferrosos, não ferrosos e aço inoxidável) (esta operação também pode ser realizada em concomitância com o enchimento, mas é menos vulgar). Neste produto, a detecção da presença de aço inoxidável é a mais importante, uma vez que a maioria dos equipamentos e utensílios na Indústria Alimentar que contactam com os alimentos são compostos por esse material.

Os detectores de metais operam com recurso a um campo electromagnético. Ao passar um objecto metálico, o equipamento sofre uma mudança no campo base, em virtude das propriedades magnéticas e eléctricas do objecto de metal. Os detectores de metais têm integrado um transportador e dispositivos para rejeição de produto contaminado. Entre esses sistemas de rejeição apresentam-se soluções simples como um alarme ou pistão de rejeição, enquanto *designs* mais sofisticados podem incluir sistemas à prova de falhas para garantir que o produto contaminado é rejeitado (<http://pt.business-listings.com>).

As principais limitações deste equipamento resultam de que a detecção de metais em alimentos requer uma máquina capaz de funcionar com uma frequência exacta, porque os diferentes tipos de aço inoxidável usados em áreas de produção de alimentos são difíceis de

detectar (<http://www.foodmc.co.uk>) e porque apenas detectam metais. Em alternativa podem ser utilizados sistemas de raio X que detectam qualquer perigo físico, como vidro e osso ([www.eaglepi.com](http://www.eaglepi.com)). A adopção destes sistemas, em relação ao detector de metais, além do mencionado relativamente a contaminantes, apresenta ainda a capacidade de verificar o peso e analisar o teor de gordura ([www.eaglepi.com](http://www.eaglepi.com)). A maior desvantagem do sistema de raio X é o custo do equipamento.

#### **f) Armazenamento de produto acabado**

A salsicha fresca é armazenada em câmaras de refrigeração entre 0 °C e +4 °C, conforme definido no Regulamento 853/2004 secção V, capítulo II, alínea 2c e subalínea i.

Mead (2007) justifica esta gama de temperaturas, para a salsicha fresca refrigerada, uma vez que quanto mais baixa for a temperatura maior a fase *lag* maior o tempo de geração da microbiota presente, o que corresponde a um maior tempo de vida útil comercial. Isto aplica-se em particular para atmosferas modificadas (Mead, 2007), que combinadas com as temperaturas de refrigeração criam uma barreira “dupla” à microbiota (Sprenger, 2002).

#### **g) Distribuição**

A temperatura máxima admitida nas caixas isotérmicas, dos veículos de distribuição do produto para os locais de venda, é de 4 °C definida na NP723 e Regulamento 853/2004. Esta temperatura é controlada através de termómetros registadores de temperatura, instalados nos próprios veículos. A cada descarga, retira-se normalmente um talão de registo da temperatura verificada nesse momento. O registador de temperatura é obrigatório apenas para alimentos ultracongelados (Regulamento (CE) n.º 37/2005 de 12 de Janeiro). No entanto, o talão de registo que resume todas as descargas apresenta-se como uma prática generalizada para as carnes frescas e demonstra o cumprimento da cadeia de frio, até ao distribuidor.

### 2.2.3. Tempo de vida útil de salsicha fresca

Os preparados de carne, nos quais se insere a salsicha fresca, não estão abrangidos por qualquer legislação específica, que mencione claramente a sua durabilidade, ou prazo útil de comercialização. De acordo com o Regulamento (CE) 178/2002, de 28 de Janeiro, os operadores do sector alimentar têm a responsabilidade, de elaborar produtos que cumpram os requisitos da legislação alimentar aplicáveis às suas actividades, e que estes requisitos sejam verificados. Do mesmo modo, de acordo com o Decreto-lei n.º560/99, de 18 de Dezembro (n.º 4, art.º 10º) e com o regulamento n.º 2073/2005 (consideração 6), a determinação da data limite de consumo é da responsabilidade do operador económico, pois é ele que melhor conhece o produto em causa, com o pressuposto, atrás referido, de que no final seja colocado à disposição do consumidor um produto seguro.

Para se determinar as datas de durabilidade mínima, ou as datas limites de consumo, é necessário que se compreenda um conjunto de reacções microbiológicas, enzimáticas e físico-químicas que possam ocorrer no interior dos preparados, e identificar os motivos e mecanismos responsáveis pela degradação e/ou perda de características. Grande parte destes mecanismos podem ser, por sua vez, identificados no decurso da implementação dos seus processos baseados nos princípios do HACCP, nomeadamente, na identificação dos perigos e dos pontos críticos de controlo, bem como no estabelecimento de limites críticos. Como tal, é de toda a conveniência que a determinação da correspondente data limite de consumo seja feita, no decorrer da implementação do sistema HACCP, pelo próprio operador (Regulamento 2073/2005, artigo 3º, alínea 2).

Neste contexto, foram-nos facultados por dois produtores diferentes, resultados relativos a dois ensaios microbiológicos e químicos de salsicha fresca realizados por um laboratório devidamente acreditado. Esses ensaios tiveram como objectivo a determinação de uma possível vida útil para a salsicha fresca. Os resultados obtidos estão apresentados nos Quadros 5 e 6. Recorreu-se ainda a um estudo semelhante de Ferreira *et al.* (2007), por forma a estabelecer uma comparação dos resultados. O Quadro 4 apresenta os resultados deste estudo.

Nos três ensaios (Quadros 4,5 e 6), desde a recolha até ao último dia de análise (dia 7), foi mantida a cadeia de frio, conservando-se as amostras a temperaturas entre 0 e 4 °C.

Por análise dos Quadros, não é possível avaliar a evolução de *Salmonella*, e o seu comportamento perante os conservantes, uma vez que não foi detectada nestes ensaios.

No estudo de avaliação do prazo de vida útil da salsicha fresca efectuado por Ferreira *et al.* (2007), concluiu-se que o prazo de consumo para este produto poderia ser de 5 dias, desde que se adicionasse sulfito de sódio expresso em SO<sub>2</sub>, na dose de 450 mg/kg.

Quadro 4 – Durabilidade da salsicha fresca <sup>(0)</sup> ; Fonte: Ferreira <i>et al</i> (2007)					
Parâmetros	Método	Dia 2	Dia 5	Limite	
<b>Microrganismos aeróbios a 30 °C</b>	NP 4405:2002	3,8 x 10 <sup>5</sup> ufc/g	2,7 x 10 <sup>5</sup> ufc/g	<=5,0x10 <sup>6</sup> ufc/g	
<b>Coliformes a 30 °C</b>	NP 3788:1990	1,1 X 10 <sup>2</sup> ufc/g	6,8 X 10 <sup>2</sup> ufc/g	----	
<b><i>Escherichia coli</i> β-glucuronidase positiva</b>	NP 4396:2002	1,0 X 10 ufc/g	1,0 x 10 ufc/g	<=5,0x10 <sup>2</sup> ufc/g	
<b><i>Staphylococcus coagulase</i> positiva</b>	NP 4400-2:2002	1,7x 10 <sup>2</sup> ufc/g	5,8 x 10 <sup>2</sup> ufc/g	<=5,0x10 <sup>2</sup> ufc/g	
<b><i>Salmonella</i></b>	NP 870: 1988	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	AUSÊNCIA em 25 g	

(0) Valores referentes à média de 10 ensaios

A mesma durabilidade foi confirmada pelo estudo apresentado no Quadro 5. O estudo incidiu sobre um produto apenas conservado sob refrigeração, embalado em saco esterilizado do laboratório e sem qualquer atmosfera protectora. Este estudo incluiu a determinação da quantidade de sulfitos, que neste caso foi de 38 mg de SO<sub>2</sub>/Kg, sendo o limite máximo admitido de 450 mg de SO<sub>2</sub>/Kg (Decreto-Lei n.º33/2008 de 25 de Fevereiro).

Quadro 5 – Durabilidade da salsicha fresca – Estudo 1 <sup>(1)</sup> ; Fonte: Produtor não identificado					
Parâmetros	Método	Dia 2	Dia 5	Dia 7	Limite
<b>Microrganismos aeróbios a 30 °C</b>	ISO 4833:2003	1,4 x 10 <sup>6</sup> ufc/g	1,5 x 10 <sup>6</sup> ufc/g	5,2 x 10 <sup>7</sup> ufc/g	<=5,0x10 <sup>6</sup> ufc/g
<b><i>Escherichia coli</i> β-glucuronidase positiva</b>	ISO16649-2:2001	8 x 10 ufc/g	2,7 x 10 <sup>2</sup> ufc/g	9 x 10 <sup>2</sup> ufc/g	<=5,0x10 <sup>2</sup> ufc/g
<b><i>Staphylococcus coagulase</i> positiva</b>	ISO 6888-2:1999	1 x 10 ufc/g	4 x 10 ufc/g	<1 x 10 ufc/g	<=5,0x10 <sup>2</sup> ufc/g
<b><i>Salmonella</i></b>	Rapid Salmonella BRD 07/11-12/05	Ausência em 10 g	Ausência em 10 g	Ausência em 10 g	AUSÊNCIA em 10 g

(1) Os valores apresentados referem-se a 3 amostras de um lote de salsicha fresca, recolhidas junto de um produtor a 25 de Outubro de 2011. As condições de aceitabilidade (Limite) foram as aplicadas para carnes frescas picadas e preparados de carne (Regulamento n.º1441/2007).

A contagem de microrganismos aeróbios a 30 °C constitui um dos melhores indicadores da qualidade microbiológica da maioria dos alimentos, podendo com isso estimar a carga microbiana total (Anderson e Pascual, 2000). O ICMSF (1986) indica que a análise deste parâmetro aponta a adequação dos processos industriais, ao nível da higienização e controlo de temperatura. A mesma entidade anota que, pela contagem de microrganismos a 30 °C é permitido obter informação da provável vida útil do produto.

Analisando o Quadro 5 verificava-se, ao dia 2, uma considerável contagem de microrganismos mesófilos, revelando uma baixa qualidade microbiológica inicial. Analisando a evolução da contagem de aeróbios, verifica-se que apenas do dia 5 para o dia 7, tenha ocorrido um aumento considerável do seu número. Este facto denota que a temperatura e os conservantes criam uma barreira ao crescimento, prolongando possivelmente a fase *lag*.

Do segundo até ao quinto dia, verifica-se um aumento acentuado de *E. coli*. Ao dia 7, as contagens de microrganismos a 30 °C e de *E. coli* são superiores ao admitido por lei, tornando o produto não aceitável para consumo.

Conclui-se que a durabilidade deste produto, sem atmosfera de protecção, é de cinco dias. Salienta-se que a quantidade de conservantes presentes (38 mg/kg) é muito menor, do que o VMA (450 mg de SO<sub>2</sub>/Kg). Os sulfitos presentes asseguram a estabilidade da qualidade microbiológica da salsicha fresca. O mesmo prazo de validade foi obtido por Ferreira *et al.* (2007) embora com uma concentração de SO<sub>2</sub> muito superior.

Num segundo estudo (Quadro 6), as salsichas foram embaladas sob atmosfera modificada (ATM) após a sua produção. A concentração de SO<sub>2</sub> foi de 55 mg/Kg.

Quadro 6 – Durabilidade da salsicha fresca – Estudo 2 <sup>(2)</sup> ; Fonte: Carnes Valinho					
Parâmetros	Método	Dia 2	Dia 5	Dia 7	Limite
<b>Microrganismos aeróbios a 30 °C</b>	ISO4833:2003	3,5 x 10 <sup>5</sup> ufc/g	2,0 x 10 <sup>5</sup> ufc/g	3,6 x 10 <sup>5</sup> ufc/g	<=5,0x10 <sup>6</sup> ufc/g
<b><i>Escherichia coli</i> β-glucuronidase positiva</b>	ISO16649-2:2001	2,5 x 10 <sup>2</sup> ufc/g	7,0 x 10 <sup>1</sup> ufc/g	4,0 x 10 <sup>1</sup> ufc/g	<=5,0x10 <sup>2</sup> ufc/g
<b><i>Staphylococcus coagulase</i> positiva</b>	ISO6888-2:1999	<1 x 10 <sup>1</sup> ufc/g	<1 x 10 <sup>1</sup> ufc/g	<1 x 10 <sup>1</sup> ufc/g	<=5,0x10 <sup>2</sup> ufc/g
<b><i>Salmonella</i></b>	Rapid Salmonella BRD 07/11-12/05	Ausência em 10 g	Ausência em 10 g	Ausência em 10 g	AUSÊNCIA em 10 g

(2) Os valores apresentados referem-se a 3 amostras de um lote de salsicha fresca, recolhidas junto de um produtor a 4 de Junho de 2012. As condições de aceitabilidade foram as aplicadas para carnes frescas picadas e preparados de carne (Regulamento n.º1441/2007).

Comparativamente ao estudo apresentado anteriormente no Quadro 4, o efeito dos sulfitos parece manter-se. No entanto, é de referir a existência de ATM. A combinação desta com os sulfitos traduzem-se numa considerável redução de contagens do dia 2 para o dia 5 de *E.coli*, enquanto a carga microbiana total manifesta-se estável.

No dia 7, os valores de todos os parâmetros analisados apresentam-se ainda aceitáveis e, como tal, seria possível atribuir sete dias de durabilidade a estas salsichas embaladas em ATM. Conclui-se que a ATM em combinação com a temperatura de refrigeração e os sulfitos podem prolongar a durabilidade das salsichas frescas, até sete dias, neste estudo.

De uma forma global, os resultados dos Quadros 4 e 5, sugerem que um prazo de validade de pelo menos 5 dias poderá ser aplicado a este produto desde que se mantenha uma temperatura de conservação até 4°C.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1. Caracterização das indústrias alvo do estudo

O Instituto Nacional de Estatística (INE, 2007), através da classificação Portuguesa das actividades económicas, revisão 3, e do decreto-lei n.º 209/2008 de 29 de Outubro aprovaram o regime de exercício da actividade industrial (REAL) (secção C do anexo I), no qual se enquadram a produção de preparados de carne - salsicha fresca - na secção C (indústrias transformadoras), divisão 10 (indústrias alimentares), grupo 101 (abate de animais, preparação e conservação de carne e produtos à base de carne) e a classe 1013 e a subclasse 10130 (fabrico de produtos à base de carne).

As oito indústrias alvo do levantamento das condições de segurança e higiene da produção de salsichas frescas, cujos resultados vão ser analisados no presente trabalho, situavam-se num raio de aproximadamente 100 Km de Lisboa. Segundo a Nomenclatura Comum das Unidades Territoriais Estatísticas (NUTS), o território continental português é inserido na sub-região estatística NUTSII de acordo com o Regulamento (CE) n.º 1059/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho de 26 de Maio de 2003. Este novo desenho do território português, insere as fábricas cuja salsicha fresca é alvo de estudo em 4 regiões: Grande Lisboa, Península de Setúbal, Lezíria-Tejo e Oeste.

O Quadro 7 apresenta a distribuição geográfica das oito empresas com base no NUTS II.

Quadro 7 – Distribuição das oito empresas por região	
Produtor	Região
1	Oeste
2	Península Setúbal
3	Lezíria - Tejo
4	Grande Lisboa
5	Oeste
6	Oeste
7	Grande Lisboa
8	Grande Lisboa

Através da lista actualizada em Julho de 2012 dos estabelecimentos aprovados para abate e transformação de carne, da Direcção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), disponível em <http://www.dgv.min-agricultura.pt> existiam nesta data, na região de Lisboa e Vale do Tejo (LVTejo), 44 instalações de processamento de carne. Nove instalações de abate com sala de desmancha contígua e 35 salas de desmancha. Em ambas as situações,



produziam-se preparados de carne. As oito empresas aqui alvo de estudo (incluíam 2 matadouros) representavam 18 %, da totalidade das indústrias da região.

As oito unidades eram, em regra, de pequena e média dimensão, com baixos volumes de produção (1 a 5 Ton./semana) e na sua maioria com menos de 30 funcionários. Neste grupo de empresas existiam, contudo, duas unidades com mais de 50 trabalhadores, que tinham associado (em instalações contíguas), a linha de abate e a preparação das carcaças. A maioria das unidades industriais incluídas neste estudo (seis), recorria à aquisição de aparas de carne, no estado fresco e/ou congelado para produzir o produto em estudo. Todas as unidades fabricavam, também, outro tipo de enchidos e/ou preparados cárneos.

Todas as unidades fabris tinham implementado o sistema HACCP, assente em sistemas de pré-requisitos de Boas Práticas de Fabrico e de Boas Práticas de Higiene.

A água incorporada na salsicha fresca era, na maioria das unidades, fornecida pelas entidades gestoras da região (água de rede), havendo quatro casos em que era obtida por captação subterrânea (água de furo), submetida a desinfecção e controlo diário da quantidade de cloro residual, para além de controlo laboratorial, previsto no Decreto-lei n.º 306/2007 de 27 de Agosto.

### 3.2. Colheita de amostras

A colheita de amostras foi realizada em condições de assépsia. As amostras foram recolhidas aleatoriamente por técnicos com formação na área alimentar, e foram conservadas e transportadas para o laboratório em caixas isotérmicas e cobertas com gelo em refrigeração (máximo +4 °C) e analisadas em menos de 24 h após a colheita.

Todas as amostras, antes de serem dadas como aptas para análise, foram objecto de verificação de temperatura e de integridade da embalagem.

### 3.3. Métodos analíticos

Na União Europeia existem regulamentos referentes aos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, os quais estabelecem os métodos de análise de referência, além dos limites legais para critérios de higiene e segurança (Regulamento (CE) n.º 2073/2005 alterado pelo Regulamento (CE) n.º 1441/2007). Estes métodos de referência estavam implementados pelo laboratório do qual resultaram as análises que serão objecto de estudo, nesta dissertação. O laboratório que realizou as análises encontrava-se acreditado pelo IPAC (Instituto Português de Acreditação) pela Norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 e disponibilizava o respectivo certificado de acreditação.

A pesquisa de *Salmonella* foi efectuada através do método rápido Rapid' *Salmonella* (BioRad), que substituiu o método de referência EN/ISO 6579:2002<sup>(2)</sup>. O método RAPID' *Salmonella* (validado pela *Association Française de Normalisation* (AFNOR) BRD-07/11-12-05) utiliza um meio de cultura de agar cromogénico, cujo princípio se baseia na identificação da actividade enzimática da esterase C8 de *Salmonella*. Neste meio as colónias apresentam a cor magenta. A detecção de *Salmonella* é possível em 48 h (<http://www.biomerieux-diagnostics.com>). Este teste é reconhecido como substituto do método de referência para detecção de *Salmonella* spp. - EN ISO 6579:2002, através da Decisão da Comissão de 24 de Junho de 2003, após parecer positivo e validado pela certificação da AFNOR, de acordo com a norma ISO 16140:2003.

A contagem de *Escherichia coli* foi efectuada segundo a norma ISO 16649-2:2001<sup>(3)</sup>, na qual é descrito que após diluição da amostra, esta é inoculada em agar TBX CHROMOGENIC – *Tryptone Bile Salts Agar*, previamente preparado que juntamente com o agente x-β-D-Glucuronido, detecta a presença da enzima β-glucuronidase, específica de *E. coli* (<http://www.condalab.com>). Neste meio as colónias de *Escherichia coli* apresentar-se-ão azuladas.

A contagem de microrganismos aeróbios a 30 °C, foi efectuada segundo a ISO 4833:2003<sup>(4)</sup>. A amostra é homogeneizada, diluída em série e incubada a 30°C durante 48 horas em Plate Count Agar (PCA). Após o período de incubação, as colónias visíveis (entre 30 e 300) são contadas. Os resultados são expressos em unidades formadoras de colónias por grama (ufc/g).

---

<sup>2</sup> **EN ISO 6579:2002** Microbiologia de alimentos para consumo humano e para alimentação animal - Método horizontal para a detecção de *Salmonella* spp.

<sup>3</sup> **EN ISO 16649-2:2001** Microbiologia de alimentos para consumo humano e para alimentação animal - Método horizontal para a enumeração de *E. coli* β- glucuronidase-positiva.

<sup>4</sup> **EN ISO 4833:2003** Microbiologia de alimentos para consumo humano e para alimentação animal - Método horizontal para a enumeração de microrganismos a 30 °C-Técnica de contagem de colónias.

### 3.4. Caracterização da amostragem

Avaliaram-se 1705 resultados analíticos de salsicha fresca de oito clientes do referenciado laboratório alimentar, relativos a 5 anos consecutivos (2007 a 2011).

Para se executar a apreciação do critério de aceitação para *E. coli* (critério de higiene), respeitando o estipulado pelo Regulamento (CE) n.º 1441/2007, das 1705 amostras formaram-se conjuntos de 5 unidades do mesmo lote (1 amostra de N=5), resultando 341 subamostras (341 lotes).

No Quadro 8 é apresentado uma contagem de amostras por fabricante, transpostos para N=5.

Quadro 8- Transposição de amostras para conjuntos de 5 resultados (N=5)		
FÁBRICA	Total amostras	Subamostras (N=5)
1	295	59
2	290	58
3	405	81
4	55	11
5	115	23
6	245	49
7	200	40
8	100	20

No que diz respeito à amostragem, esta apresenta uma certa heterogeneidade, característica de um estudo desta índole. A fábrica 3 apresenta a maior amostragem (405 amostras) enquanto na fábrica 4 foi recolhida salsicha fresca apenas por 11 vezes (55 amostras).

Quadro 9 – Percentagem de amostras recolhidas por região	
Região	%
Lisboa	37,5%
Oeste	37,5%
Lezíria – Tejo	12,5%
Setúbal	12,5%

O Quadro 9 apresenta a distribuição das amostras por região, indicando que na região da grande Lisboa e Oeste, existe uma concentração considerável de fabricantes de salsicha fresca que contribuíram para o universo da amostragem. Esta distribuição deverá estar estritamente relacionada com a densidade populacional da região de influência comercial das respectivas unidades e índices de consumo associados.

### 3.5. Análise estatística de resultados

Os resultados relativos à presença de *Salmonella* e ao critério de higiene foram tratados estatisticamente com auxílio do teste de Qui-quadrado ( $Qui^2$ ), com os valores de proporção entre níveis dos factores considerados, ajustados pelo método de *Bonferroni* para 95% de confiança. A escolha da utilização destes testes resultou do facto de se ter estudado variáveis discretas (e.g.: número de amostras; positivo-negativo; Satisfatório-Insatisfatório).

O estudo relativo à qualidade microbiológica (microrganismos totais a 30 °C e contagens de *E.coli* (Log ufc/g)) da salsicha fresca foi realizado com auxílio do teste de Kruskal-Wallis (Teste *H*). O teste *H* faz uma análise da variância de três ou mais amostras. Este teste é utilizado para comparar as médias das amostras (independentes entre si) (Jordan, 2008).

Os testes estatísticos foram realizados com os programas *IBM SPSS Statistics Realese* 20.0.0 e *StatSoft, Inc.* (2007), *Statistica* version 8.0.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Distribuição de amostras

A distribuição de amostras (n=1705) ao longo do período em estudo, 2007-2011, revelou uma significativa ausência de proporcionalidade quer entre os vários anos ( $\text{Qui}^2=166,3$ ;  $p<0,001$ ), quer entre os vários meses ( $\text{Qui}^2=20,9$ ;  $p<0,05$ ). A ausência de análises referentes aos primeiros 4 meses de 2007 deve ter contribuído decisivamente para este resultado, uma vez que nos restantes quatro anos o número de observações foi mais próximo entre si (de 355 a 435) (Figura 2). Relativamente ao número de amostras por fábrica, a respectiva dimensão em termos de capacidade de laboração assim como a regularidade de solicitações de análise junto do laboratório considerado, justificam a significativa ausência de proporcionalidade revelada ( $\text{Qui}^2=460,0$ ;  $p<0,001$ ).

A figura 2 apresenta a distribuição anual das amostras.

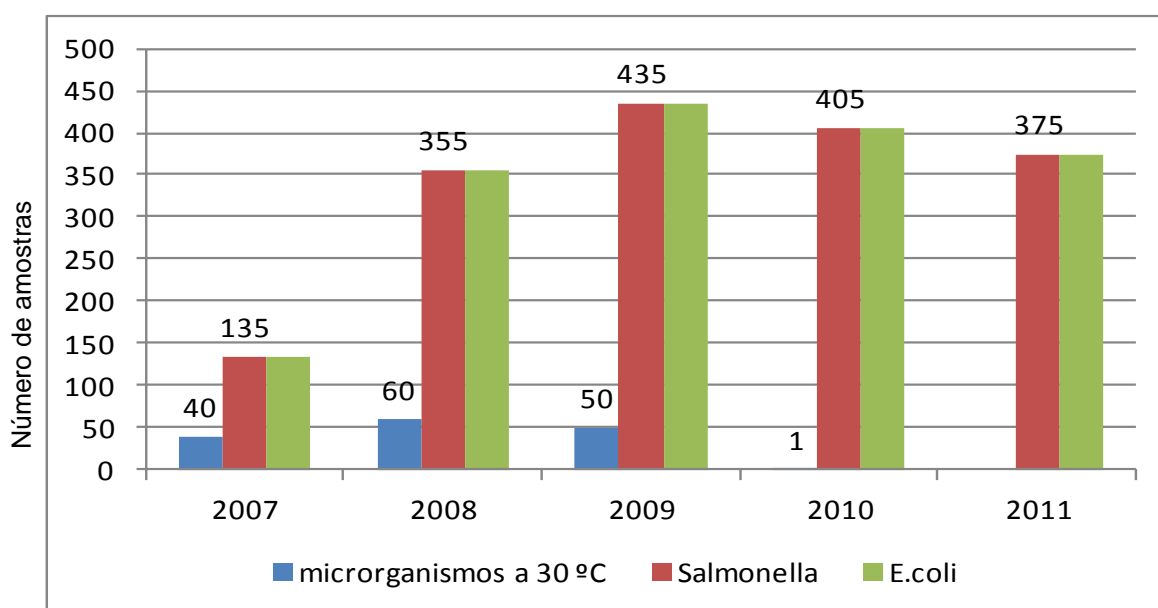


Figura 2 – Distribuição anual do número de amostras dos vários testes microbiológicos.

**$\text{Qui}^2: (4, N=1705) = 166,3; p=0,0001$**

Verificam-se um máximo de 435 amostras no ano 2009, que correspondeu a 25,5% do total de resultados. Nos anos de 2008, 2010 e 2011, o número total de análises situou-se entre os 20,8% e 23,8% da totalidade, não diferindo significativamente (Anexo1; QuadroA101). Dos anos considerados, o ano de 2007, é aparentemente, atípico pelo facto de se terem recolhido apenas 135 amostras (7,9%). Este menor número de amostras pode estar relacionado com o facto de a amostragem ter sido iniciada em Abril.

Por outro lado a distribuição não uniforme das amostras ao longo dos anos, deve-se ao facto de alguns fabricantes não manterem uma produção constante de salsicha fresca e como tal não realizaram a respectiva amostragem, e ao facto de o número de indústrias a trabalhar com o laboratório que facultou os resultados ter variado ao longo do tempo.

Relativamente à distribuição das amostras ao longo dos meses de cada ano (figura 3), o teste estatístico revelou que essa distribuição das amostras é significativamente diferente, no entanto em cada ano a amostragem não difere significativamente com 95% de confiança (Anexo1;QuadroA101).

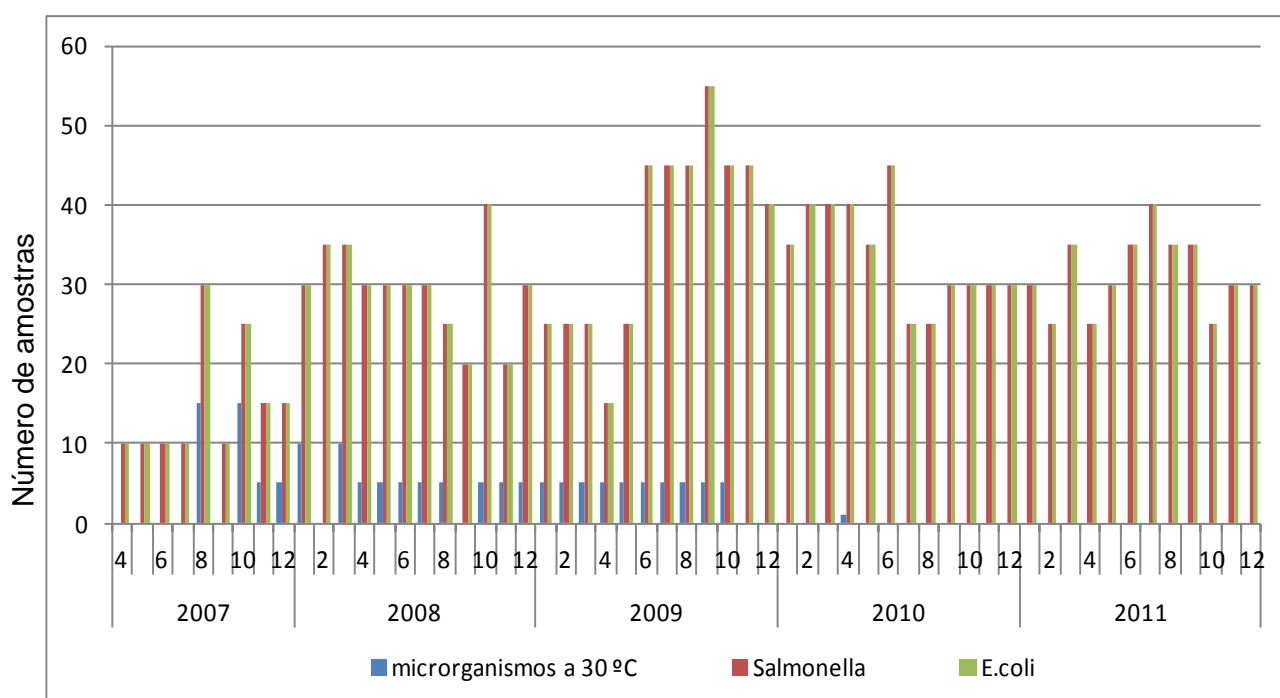


Figura 3 – Distribuição mensal do número de amostras dos vários testes microbiológicos.

**Qui<sup>2</sup>: (11,N=1705) = 20,9; p=0,034**

Os meses com maior peso para o total de amostras, foram os de Junho (9,7%), Agosto (9,4%) e Outubro (9,7%). No sentido inverso, apresentam-se os meses de Janeiro e Abril (7,0%) (Anexo1; Quadro A101). Esta variação poderá estar relacionada com o consumo deste produto, sugerindo que existia um maior controlo nos meses de verão.

Na figura 4 apresentam-se as amostras recolhidas por fábrica.

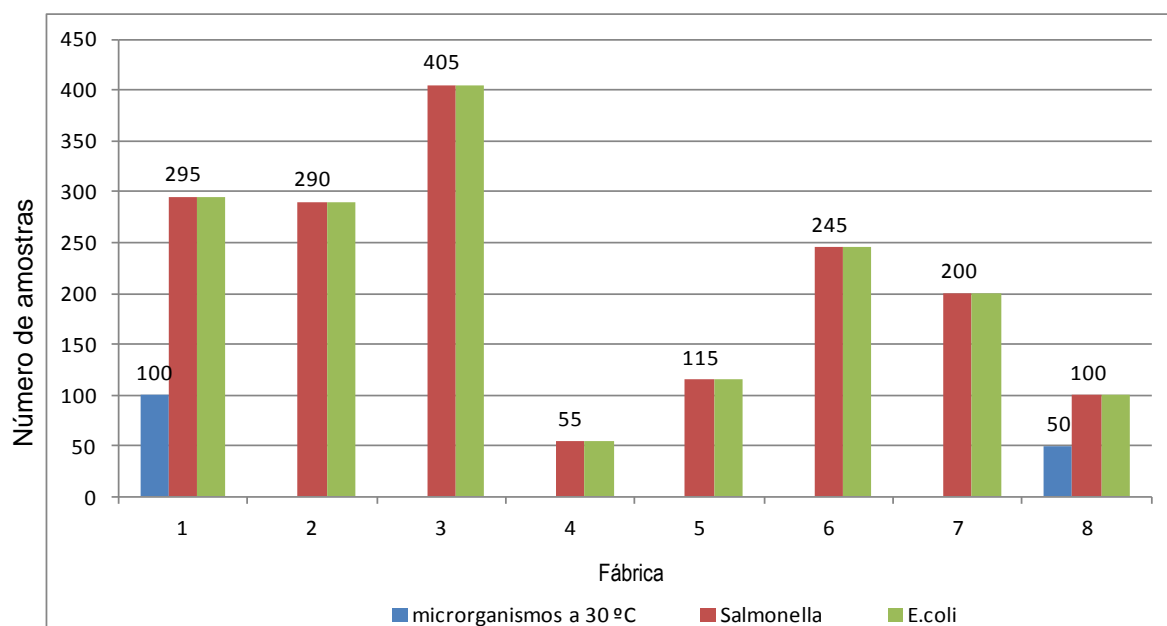


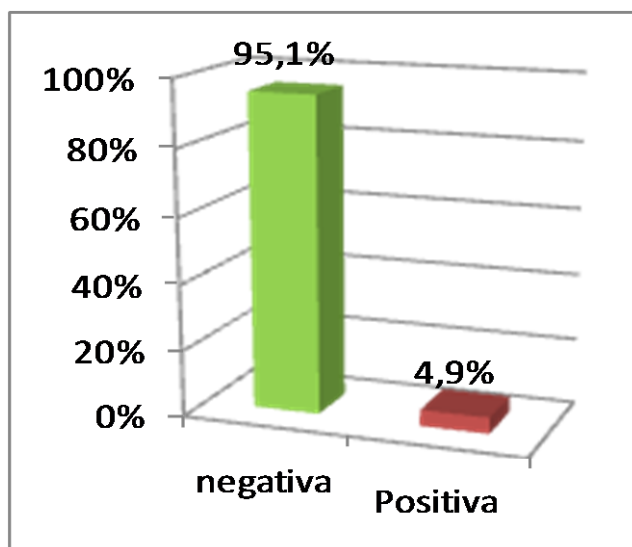
Figura 4 – Número e distribuição de amostras dos vários testes microbiológicos por fábrica

**Qui<sup>2</sup>: (7, N=1705) = 460,0; p=0,0001**

As fábricas 1 e 2 a par das 6 e 7 apresentam números semelhantes de amostras. Com a maior recolha de resultados analíticos destaca-se o produtor 3 (405 amostras) e com menor a fábrica 4 (55 amostras). O elevado número de amostras do produtor 3, é indicador da regularidade de amostragem ao longo do período de estudo. No Anexo 1, Quadro A102, pode ser verificado que não existem diferenças significativas na amostragem entre fábricas em cada ano, a 95% de confiança.

#### 4.2. Pesquisa de *Salmonella*

Para a análise dos resultados consultou-se o critério obrigatório assente no Regulamento (CE) n.º 1441/2007 (descrito no Quadro 1 em 1.2), que oficializa que a pesquisa de *Salmonella* é indicador de segurança da salsicha fresca. Neste contexto, qualquer lote com um único resultado positivo, nas 5 unidades da amostra (N=5), indica que o produto é inseguro e portanto o resultado é considerado insatisfatório. Não havendo qualquer resultado positivo, o produto é considerado satisfatório.



Encontraram-se 84 resultados positivos de *Salmonella* na totalidade das 1705 amostras (figura 5), o que representa uma prevalência de 4,9% no período em estudo (2007-2011). O teste Qui<sup>2</sup> realizado indica para uma diferença altamente significativa (Qui<sup>2</sup>=1385,5;  $p < 0,0001$ ), entre a ocorrência de resultados positivos e negativos.

Figura 5 - Frequência total de amostras negativas e positivas para *Salmonella*

Os valores apresentados como positivos são resultado da soma das detecções efectuadas e a distribuição de positivos no período de estudo são apresentados na figura 6.

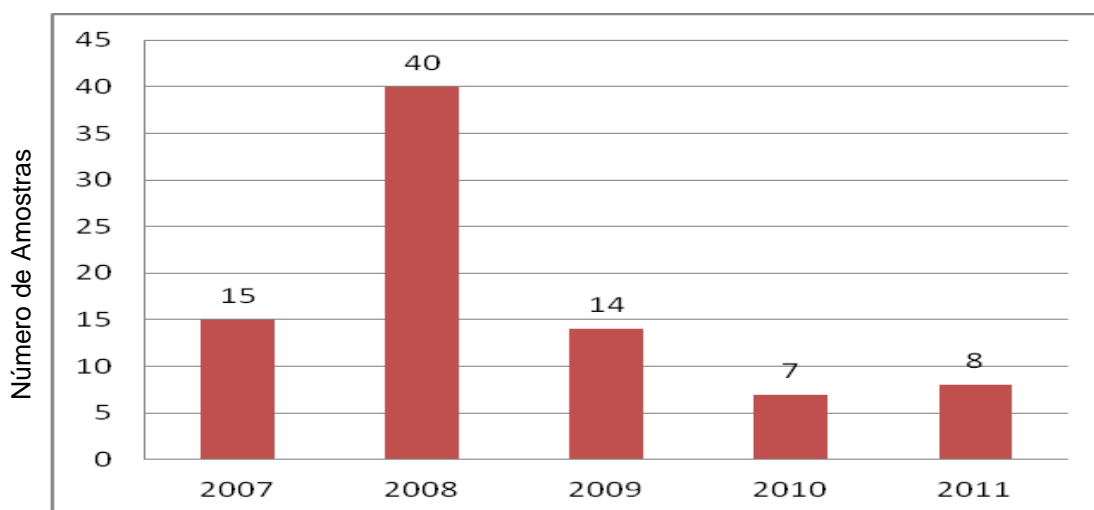


Figura 6 – Número de amostras com resultados positivos para *Salmonella*

Qui<sup>2</sup>: (4, N= 84) = 43,0;  $p = 0,001$ .



A ocorrência de análises positivas de *Salmonella* foi estatisticamente diferente para os vários anos.

O maior número de casos ocorreu em 2008 com 40 positivos de *Salmonella*, que no universo dos positivos de *Salmonella* (84), representa aproximadamente metade (47,6%) dos casos observados, no período deste estudo (Anexo2; QuadroA201). Estes factos também se verificam relativamente às frequências apresentadas na figura 7. Nesta figura encontra-se representada a frequência de amostras com resultados positivos para *Salmonella* ao longo do período em análise. As percentagens referem-se ao número de resultados de análise positivas em relação ao número de amostras por ano.

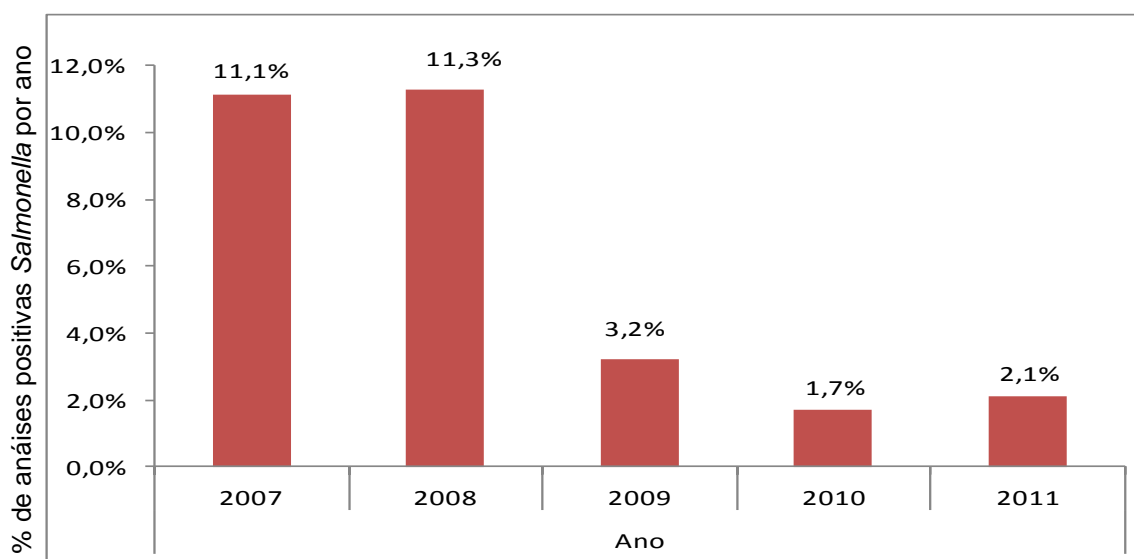


Figura 7 – Percentagem de amostras positivas para *Salmonella*

**Qui<sup>2</sup>: (4, N= 84) = 43,0; p = 0,001.**

Conforme referido anteriormente, apesar do número de amostras ser significativamente diferente em 2007 e 2008 (Figura 2), a percentagem de resultados positivos de *Salmonella* é semelhante (11%) (figura 7).

Observando a figura 7 pode-se constatar a considerável redução de 11,3% para 3,2% de resultados positivos de 2008 para 2009. Desde o ano de 2010, inclusive, que a percentagem de *Salmonella* se mantém um nível relativamente constante e baixa.

A contribuição por fabricante para os resultados positivos de *Salmonella* é apresentada na figura 8. Os dados agora apresentados revelam uma diferença altamente significativa da proporção com que ocorreram casos positivos de *Salmonella* nas várias fábricas.

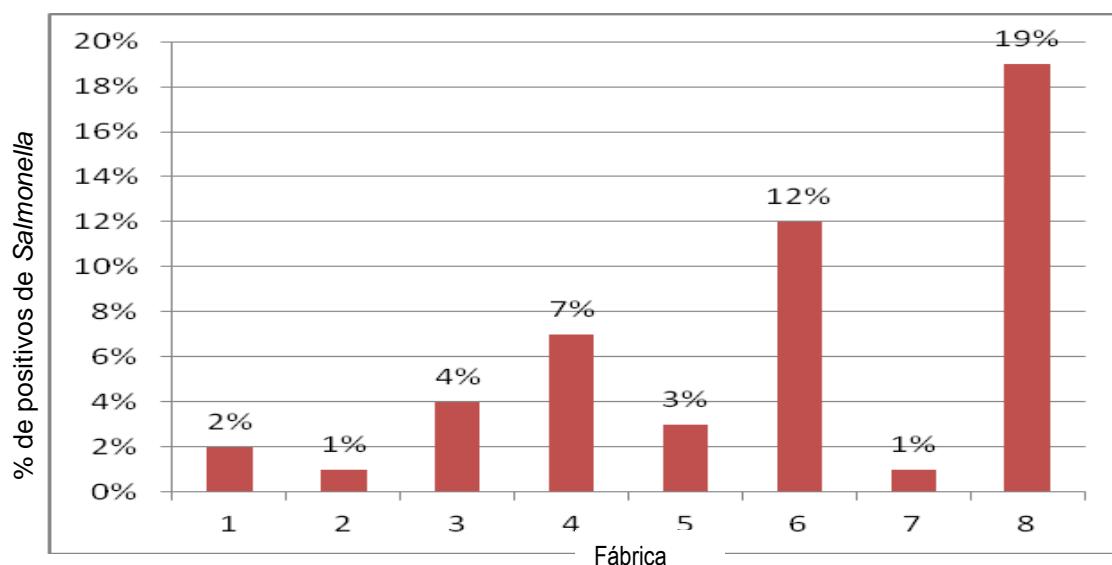


Figura 8 - Resultados positivos de *Salmonella* por fabricante, em relação ao número de amostras de cada fábrica

$\text{Qui}^2: (7, N = 84) = 68,2; p = 0,001.$

O Quadro 7 apresenta a frequência e a distribuição anual dos resultados positivos de *Salmonella* por cada produtor (em relação às 1705 amostras).

As fábricas que apresentaram maiores frequências para o número total de casos positivos de *Salmonella* no período 2007-2011 foram a fábrica 8 (19%) seguida da fábrica 6 (12%) (figura 8). Contudo no período considerado, o produtor 6 foi o que mais contribuiu para a prevalência de *Salmonella* (1,8%), tendo sido seguido pela fábrica 8 (1,1%) (Quadro 10). A fábrica 3 apresenta uma contribuição semelhante (0,9%) em relação ao produtor 8. No ano de 2008, os três produtores obtiveram resultados semelhantes, com frequências que variavam entre os 2,8% e os 3,7%. No sentido inverso, os produtores 1, 2 e 7 apresentam contribuições para os resultados positivos de *Salmonella*, relativamente baixas (figura 8 e Quadro 10).

Quadro 10 - Frequência e distribuição anual de amostras com presença de <i>Salmonella</i> por fábrica								
	Fábrica							
ANO	1	2	3	4	5	6	7	8
2007						7,4%		3,7%
2008	0,6%		3,7%	0,6%	0,3%	3,4%		2,8%
2009					0,5%	1,8%		0,9%
2010	0,2%	1,0%					0,5%	
2011	0,8%		0,8%	0,5%				
Total (2007- 2011)	0,4%	0,2%	0,9%	0,2%	0,2%	1,8%	0,1%	1,1%

**Nota:** Os resultados a vermelho referem-se aos produtores com maior prevalência de *Salmonella* no conjunto dos anos ou em cada ano.

A figura 9 apresenta a prevalência de *Salmonella* por semestre.

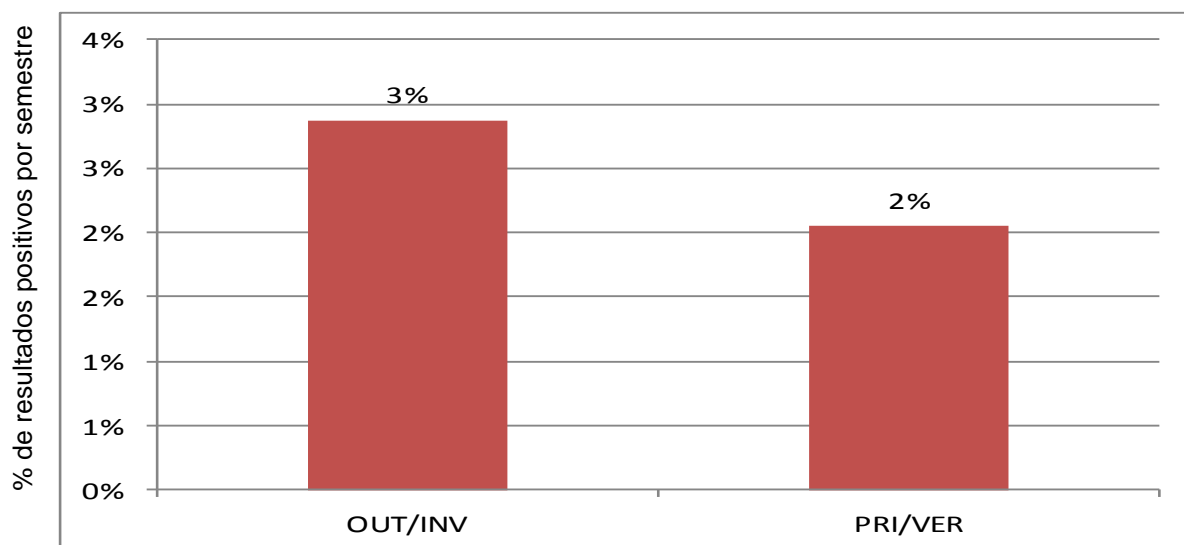


Figura 9 – Percentagem de resultados positivos de *Salmonella* por semestre, em relação ao total de amostras

**Qui<sup>2</sup>: (1, N= 84) = 3,0; p = 0,081.**

**Legenda:** OUT/INV – Outono/Inverno; PRI/VER – Primavera/Verão

O semestre de Outono/Inverno (OUT/INV) apresenta uma prevalência que não é significativamente superior ( $p=0,081$ ) em relação ao semestre Primavera/Verão (PRI/VER) (Anexo 2; QuadroA203).

A figura 10 apresenta a distribuição das amostras com resultados positivos para *Salmonella*, por semestre de cada ano.

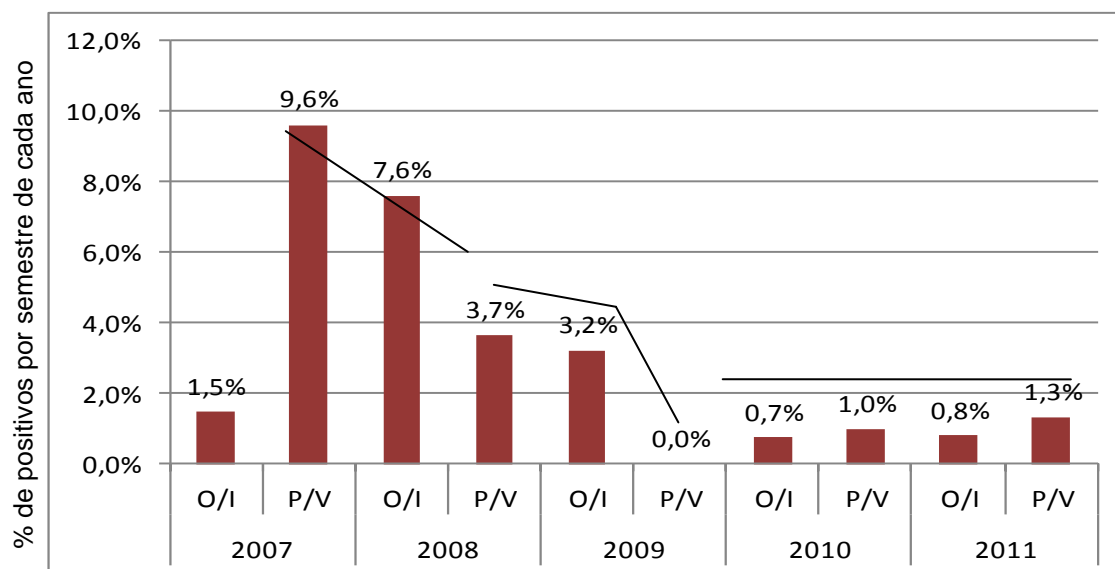


Figura 10 – Distribuição da percentagem de resultados positivos de *Salmonella* por semestre de cada ano (em relação às amostras de cada ano)

**Legenda:** O/I – Outono/Inverno; P/V – Primavera/Verão

#### 4.2.1. Resultados da EFSA relativos a *Salmonella*

Os resultados relativos à ocorrência de *Salmonella* nos preparados de carne na União Europeia recolhidos dos relatórios da EFSA resumam-se no Quadro 11. São apresentados dados de Portugal e de Espanha, e ainda, os resultados da Bélgica, uma vez que é o Estado Europeu, onde se reporta anualmente o maior número de positivos para *Salmonella* em preparados de carne (EFSA, 2012).

No que diz respeito à pesquisa positiva de *Salmonella* em preparados de carne para consumir cozinhados, de espécies que não as de aves, a média europeia foi relativamente constante desde o ano 2007 até 2010. Neste período, no ano de 2007 encontrou-se uma taxa de 3,5% e no ano seguinte registou-se a menor taxa (2,1%) do período apresentado. Acrescenta-se que no ano de 2006 em toda a união europeia realizaram-se 7021 testes a preparados de carne sendo a taxa de positivos de 2,8% (EFSA, 2007) igual à encontrada em 2010.

Em Portugal e Espanha verificou-se um aumento significativo da taxa de positivos, tendo triplicado em 2010 relativamente ao ano de 2009. Essas taxas são apreciavelmente superiores à taxa média da União Europeia (2,8%). Este facto é contrário ao encontrado nas amostras recolhidas para este trabalho, em que se verificou um decréscimo na frequência de *Salmonella* (figura7).

<b>Quadro 11 – Prevalência de <i>Salmonella</i> em preparados de carne de porco na UE</b>										
(número de amostras e respectivas percentagens positivas) <b>FONTE:</b> EFSA, 2010 e 2012										
País	2007		2008		2009		2010		2011	
	N	% Positivos	N	% Positivos	N	% Positivos	N	% Positivos	N	% Positivos
<b>Bélgica</b>	537	4,1	122	5,7	239	3,3	297	1,7	-	-
<b>Espanha</b>	63	7,9	149	4,0	27	3,7	48	10,4	-	-
<b>Portugal</b>	0	0	180	2,8	61	3,3	58	10,3	-	-
<b>Média Europeia</b>	3921	3,5	6173	2,1	9522	2,9	9467	2,8	-	-
<b>Este trabalho</b>										
<b>(QA201 – anexo2)</b>	135	11,1	335	11,3	435	3,2	405	1,7	375	2,1

**N** – N.º de amostras anuais

Um relatório apresentado pela Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE) em Julho do ano de 2011 refere que num universo de 80 amostras de preparados de carne (de suíno), recolhidas entre 2008 e 2010, foram encontradas 12 pesquisas positivas, correspondendo a 15% de prevalência de *Salmonella* (Diakos e Borges, 2011). Esta prevalência é superior aos níveis de Portugal relatados pela EFSA (Quadro 11).

No estudo efectuado neste trabalho, a prevalência encontrada de *Salmonella*, em relação ao número de amostras anuais (Anexo2; QuadroA201), apresenta uma apreciável redução de 11% para 2%. Em 2009, ocorreu uma aproximação da média Europeia para esse ano, tendo no ano seguinte ficado 1,1% abaixo da mesma.

No que diz respeito às prevalências Portuguesas, reportadas à EFSA (3,3%), e comparativamente ao estudo destaca-se a semelhança de resultados (3,2%) em 2009 e a considerável diferença em 2010: 10,3% relatados pela EFSA; 1,7% de prevalência neste estudo.

### 4.3. Qualidade microbiológica

Numa perspectiva de investigar a qualidade microbiológica global presente na salsicha fresca amostrada, recorreu-se primeiramente aos resultados de microrganismos totais a 30 °C (m.o.30°C) e de *Escherichia coli*.

Das 1705 amostras analisadas em apenas 150 foi efectuada a contagem de m.o. 30 °C. Essas amostras reportam aos anos de 2007, 2008 e 2009 (figura 2). Na figura 4 observa-se que a contagem de m.o. 30 °C foi realizada apenas na salsicha fresca oriunda das fábricas 1 e 8.

Para preparados de carne, a contagem de m.o 30 °C não é obrigatória no âmbito dos regulamentos (CE) n.º 2073/2005 e n.º 1441/2007, o que pode eventualmente ter conduzido à não realização desta análise. As amostras analisadas relativamente a este parâmetro podem, eventualmente, ter sido solicitadas por técnicos que desejavam verificar a qualidade bacteriológica geral dos produtos.

Uma vez que para preparados de carne não está estabelecido um valor limite para as contagens de m.o.30 °C, para apreciação dos resultados e de forma a avaliar a carga microbiológica encontrada nas 150 amostras, recorreu-se ao valor legal estabelecido no regulamento (CE) n.º 1441/2007, para carnes picadas. Assim, os resultados declaram-se satisfatórios quando a contagem de m.o. 30 °C foi inferior a  $5,0 \times 10^5$  (5,5 Log) ufc/g e aceitáveis se inferiores a  $5,0 \times 10^6$  (6,5 Log) ufc/g. Um resultado superior a 6,5 Log ufc/g significa que a amostra é considerada insatisfatória. Os valores apresentados deveriam ser analisados num conjunto de 5 amostras (N=5). No entanto não se efectuou essa subamostragem para o parâmetro contagem de m.o. 30 °C devido ao reduzido número de amostras em análise (150 amostras). Os resultados são apresentados em 4.3.1.

#### 4.3.1 Contagem de microrganismos a 30 °C

Na figura 11 apresenta-se um histograma com as frequências dos logaritmos da contagem de m.o. 30 °C [Log (ufc/g)]. Por observação do histograma verifica-se uma ampla dispersão de resultados, que variam entre 3,5 Log ufc/g e 7,5 Log ufc/g, com 49% das amostras a apresentar uma carga microbiana entre 5 e 6 Log ufc/g.

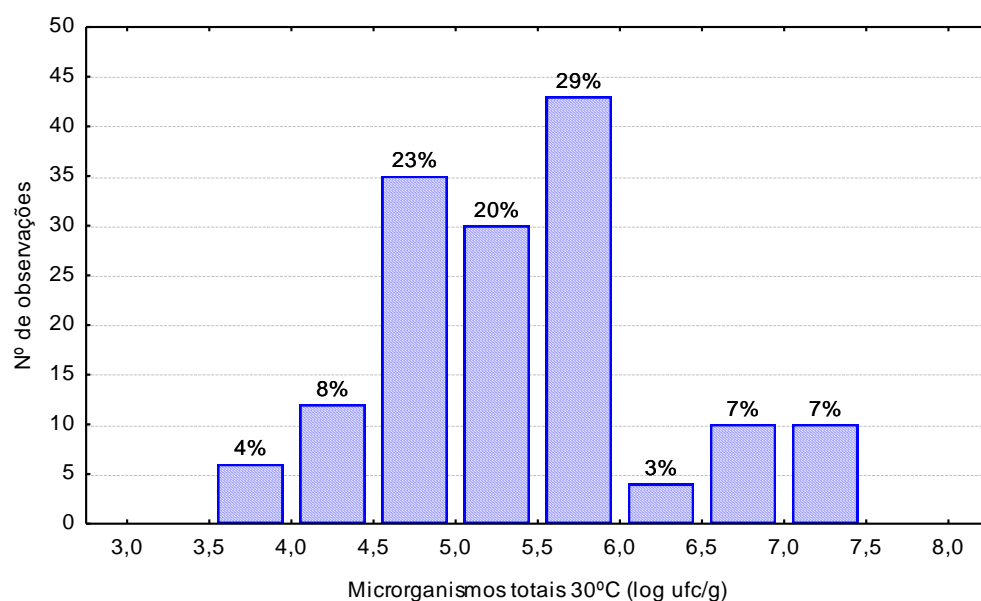


Figura 11 – Frequências dos logaritmos de contagens de m.o.30 °C (Log ufc/g)

Contudo a maioria das amostras (55%) apresenta uma qualidade bacteriológica satisfatória (inferior a 5,5 Log ufc/g). Verificando-se no entanto 14% da amostragem com contagens superiores ao limite estabelecido para carnes picadas (6,5 Log ufc/g). Salienta-se, no entanto, que os valores encontrados entre 6 Log ufc/g e 6,5 Log ufc/g (3%) apesar de aceitáveis, refletem uma baixa qualidade bacteriológica inicial da salsicha fresca (1 dia após fabrico). Estes valores e os superiores a 6 Log ufc/g sugerem uma possível alteração do produto a muito curto prazo, o que poderia ter comprometido o seu período de vida útil e eventualmente apresentar alguma implicação em termos de saúde pública.

No Quadro 12 apresentam-se os valores médios anuais das contagens de m.o.30 °C assegurando diferenças significativas ( $p=0,0000$ ) apresentando médias entre o 5,96 e 5,01 Log ufc/g, que indica que o produto era considerado aceitável ( $<6,5$  Log).

**Quadro 12** – Resultado do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens a 30 °C para cada ano

Ano	2007	2008	2009
<b>Microrganismos totais a 30°C (Log ufc/g)</b>	5,96 <sup>b</sup>	5,33 <sup>a</sup>	5,01 <sup>a</sup>
<b>Kruskal-Wallis: H ( 2, N= 150) = 25,57; p = 0,0000</b>			

**Legenda:** Valores médios afectados pela mesma letra não são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

O Quadro 12 indica que ocorreu um decréscimo significativo entre os valores médios das contagens de 2009 face a 2007. Entre 2008 e 2009 os valores não diferem significativamente com 95% de confiança.

A figura 12 apresenta as médias das contagens (Log ufc/g) para os vários anos.

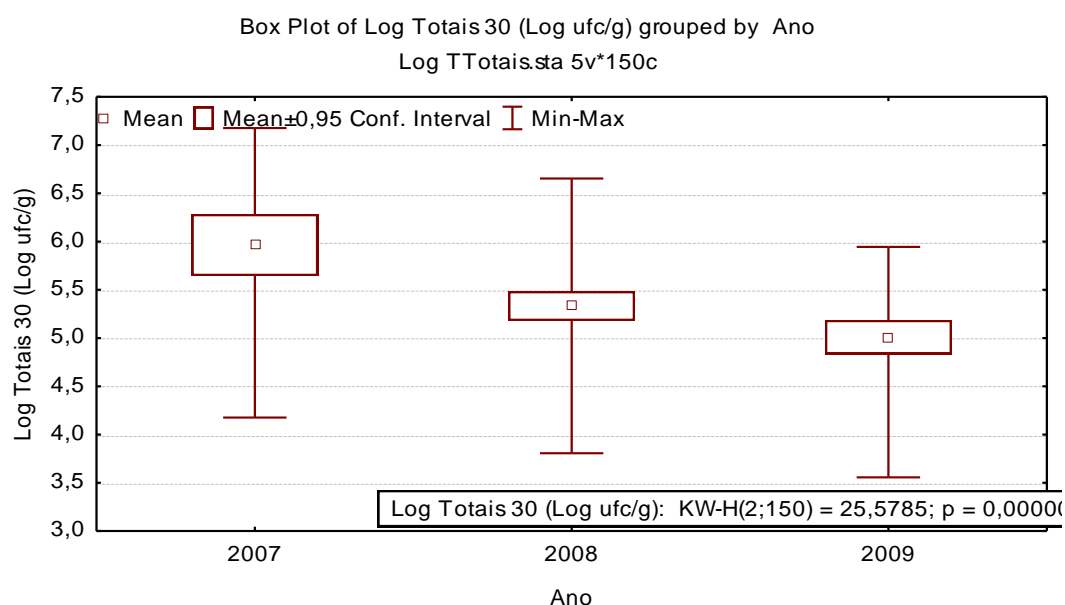


Figura 12 - Representação dos valores médios das contagens de m.o. 30 °C por ano, respectivos intervalos de confiança e amplitude.

Analisando a figura 12, verifica-se que existiu uma clara tendência de diminuição da carga da microbiota presente na salsicha fresca, observando-se a diminuição de cerca de um ciclo logarítmico de 5,96 verificado no ano 2009, para 5,01 Log ufc/g, relativamente à média registada em 2007 (6 Log ufc/g).

O Quadro 13 apresenta as médias mensais das contagens de m.o. 30 °C, tendo ocorrido diferenças significativas ( $p=0,0195$ ) entre os vários meses. Registou-se no mês de Dezembro a mais elevada média e o inverso no mês de Outubro.

**Quadro 13** - Resultado do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens a 30 °C em relação ao mês

Mês	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Contagem m.o. a 30°C (Log ufc/g)	5,18 <sup>ab</sup>	5,45 <sup>ab</sup>	5,24 <sup>ab</sup>	5,23 <sup>ab</sup>	5,24 <sup>ab</sup>	5,22 <sup>b</sup>	5,59 <sup>ab</sup>	5,78 <sup>b</sup>	5,19 <sup>ab</sup>	4,94 <sup>a</sup>	5,91 <sup>ab</sup>	5,96 <sup>ab</sup>

Kruskal-Wallis:  $H(1, N = 150) = 22,70$ ;  $p = 0,0195$

**Legenda:** Valores médios afectados pela mesma letra não são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).



A figura 13 apresenta médias das contagens verificadas em cada mês.

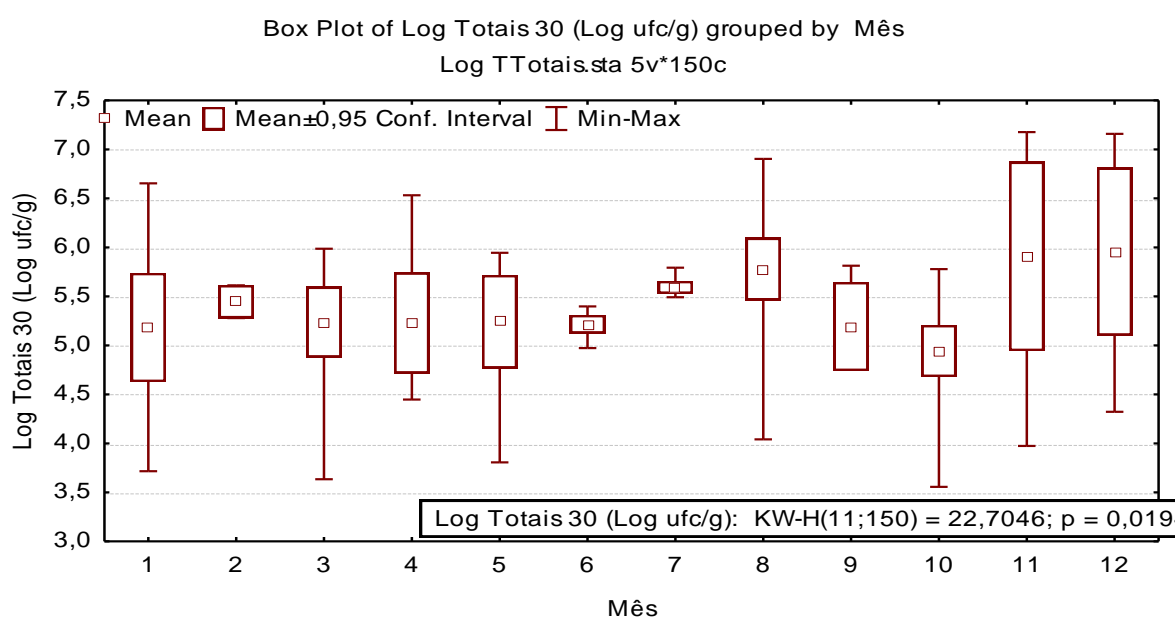


Figura 13 - Representação dos valores médios das contagens de m.o. 30 °C por mês respectivos intervalos de confiança e amplitude.

Todos os meses apresentam médias inferiores ao limite para aceitável (<6,5 Log). Os meses de Janeiro a Junho juntamente com Setembro e Outubro apresentam médias satisfatórias inferiores a 5,5 Log. As médias satisfatórias indicam que provavelmente existiu uma melhor e mais consistente aplicação de Boas Práticas de Fabrico/Higiene (BPF/H) na produção da salsicha fresca. No sentido inverso, apesar de apresentarem médias aceitáveis, os meses de Agosto, Novembro e Dezembro apresentam as médias mais elevadas. Para este facto, provavelmente contribuíram os resultados máximos verificados nestes meses, onde se encontraram contagens acima de 7 Log (ufc/g) (Figura 13). Estas contagens possivelmente foram registadas no ano de 2007 (Figura 12)

O Quadro 14 apresenta os valores médios da contagem de m.o. 30 °C para as duas fábricas e indica diferenças significativas ( $p=0,0000$ ) entre o produto elaborado nas duas unidades industriais.

**Quadro 14 – Resultado do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens a 30 °C em relação às fábricas**

Fábrica	1	8
<b>Microrganismos totais a 30°C (Log ufc/g)</b>	5,13 <sup>a</sup>	5,90 <sup>b</sup>
<b>Kruskal-Wallis: H ( 1, N= 150) = 23,04; p = 0,0000</b>		

**Legenda:** Valores médios seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

A figura 14 mostra a variação de resultados das fábricas que realizaram contagem de m.o. 30 °C.

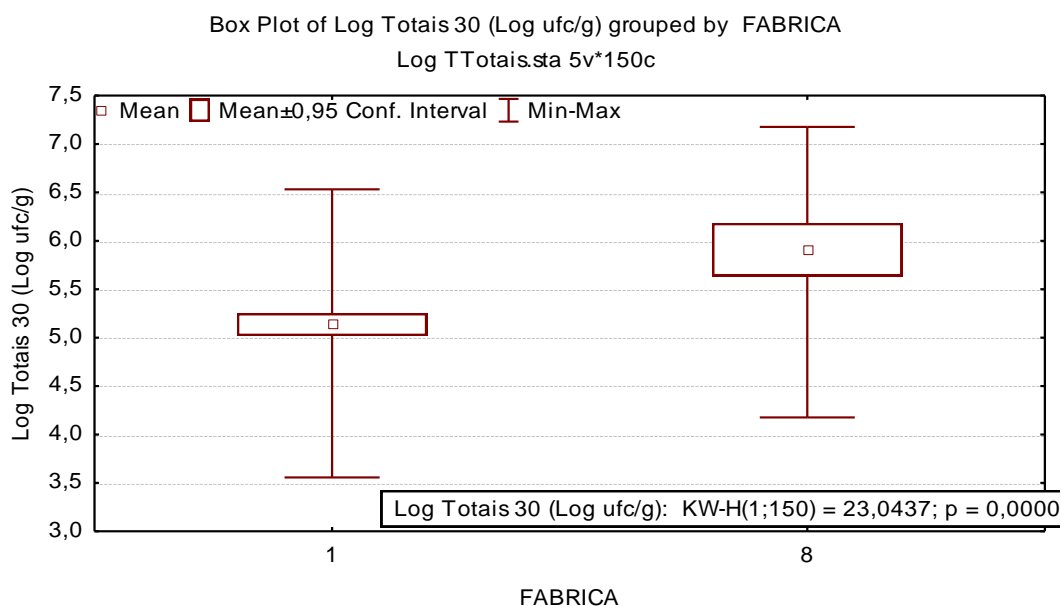


Figura 14 – Representação dos valores médios das contagens de m.o. 30 °C por fábrica respectivos intervalos de confiança e amplitude.

A fábrica 1 elaborou um produto com níveis médios satisfatórios (<5,5 Log) face à unidade 8 cujo produto exibiu médias aceitáveis (<6,5 Log), o que pode ser indicador de uma menor qualidade microbiológica da salsicha fresca produzida nesta última unidade fabril. Perante esta situação, poder-se-ia advertir os responsáveis da unidade para a necessidade de melhorar a higiene geral de fabrico e aplicar de forma constante as BPF/BPH, uma vez que o produto apresenta contagens acima dos níveis considerados insatisfatórios para carnes picadas (>6,5 Log) (figura14). Seria ainda recomendável reforçar a vigilância sobre a rede de frio da fábrica 8, que pode eventualmente ser uma das causas de contagens médias de m.o. 30 °C tão elevadas (5,9 Log ufc/g).

#### 4.3.2. Contagem de *Escherichia coli*

Na figura 15 apresenta-se um histograma com as frequências dos logaritmos da contagem de *E.coli* [Log (ufc/g)]. É possível observar um baixo e satisfatório nível de ocorrência deste microrganismo na salsicha fresca. 81% dos resultados são menores que 2,5 Log ufc/g ( $5 \times 10^2$  ufc/g) enquanto 16% apresentam-se aceitáveis com resultados entre 2,5 e 3,5 Log ufc/g e apenas 3% de amostras poderiam ser consideradas insatisfatórias.

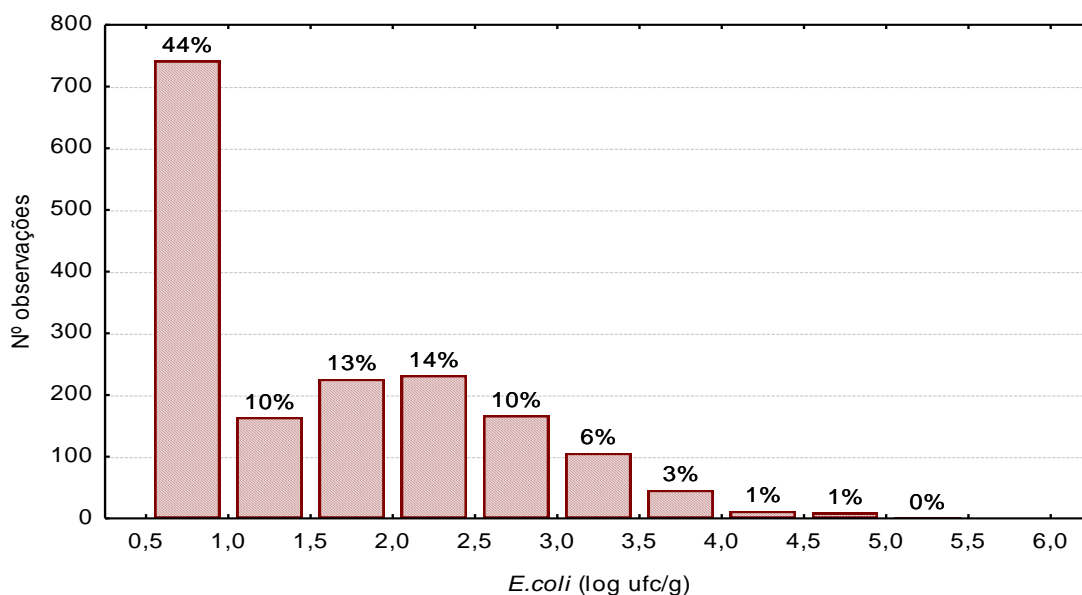


Figura 15 – Histograma de frequências de logaritmos de contagens de *E.coli*

O Quadro 15 apresenta os valores médios das contagens de *E.coli* por ano e aponta para diferenças significativas ( $p=0,0000$ ).

**Quadro 15** – Resultados do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens de *E.coli* em relação aos anos

Ano	2007	2008	2009	2010	2011
<i>E.coli</i> (Log ufc/g)	1,5 <sup>b</sup>	1,84 <sup>b</sup>	1,60 <sup>a</sup>	1,62 <sup>a</sup>	1,84 <sup>b</sup>
Kruskal-Wallis: $H(4, N=1705) = 46,7; p = 0,0000$					

**Legenda:** Valores médios seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Em cada ano, e em média, o limite estabelecido para *E.coli* não foi ultrapassado ( $<2,5$  Log). As médias variaram entre 1,5 Log (2007) e 1,84 Log (2008 e 2011), registrando-se uma melhoria nos níveis de contaminação fecal entre 2009 e 2010. As médias de 2008 foram entretanto repetidas em 2011, o que provavelmente pode indicar um aumento da contaminação por quebras dos protocolos de higiene nos fabricantes de salsicha fresca ou a montante, nos matadouros.

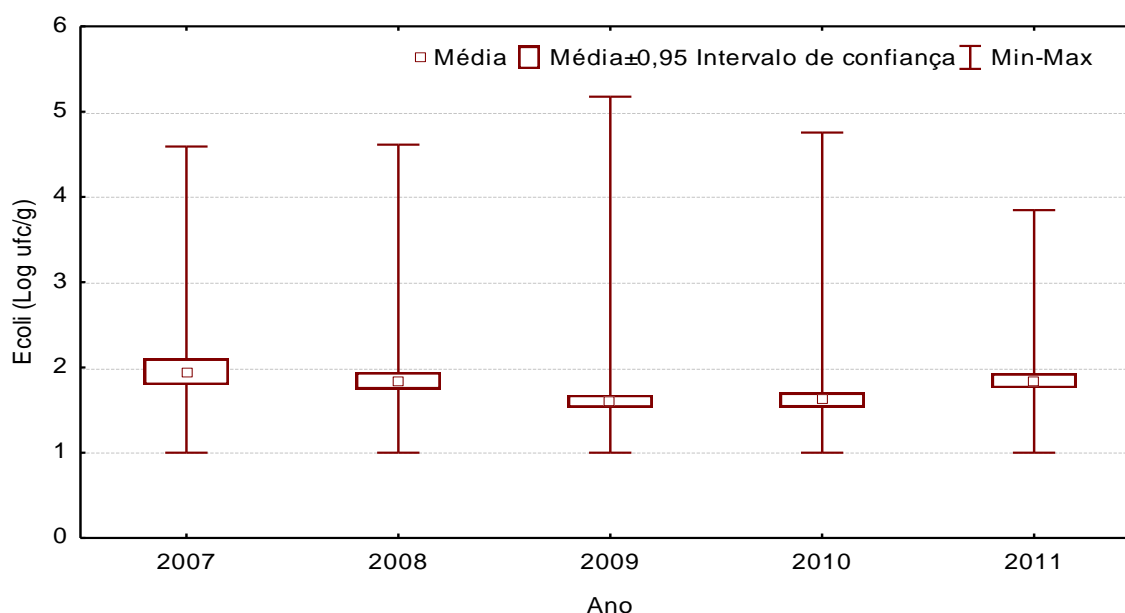


Figura 16 – Representação dos valores médios das contagens de *E.coli* por ano, respectivos intervalos de confiança e amplitude.

Por observação da figura 16 regista-se uma amplitude de resultados que encontra como máximos contagens que ultrapassam claramente o nível indicado como resultado aceitável (<3,5 Log), sugerindo irregular higiene geral. No entanto o número de vezes em que esses resultados foram registados, possivelmente foi baixo, uma vez que as médias são satisfatórias.

O Quadro 16 apresenta as médias das contagens de *E.coli* por mês e indica que as contagens entre meses são significativamente diferentes ( $p=0,0002$ ).

**Quadro 16** – Resultado do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens de *E.coli* em relação aos meses

Mês	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
<b><i>E.Coli</i></b> <b>(Log ufc/g)</b>	1,65 <sup>ab</sup>	1,55 <sup>a</sup>	1,64 <sup>ab</sup>	1,60 <sup>ab</sup>	1,83 <sup>ab</sup>	1,96 <sup>b</sup>	1,81 <sup>ab</sup>	1,89 <sup>ab</sup>	1,75 <sup>ab</sup>	1,71 <sup>ab</sup>	1,79 <sup>ab</sup>	1,52 <sup>a</sup>
<b>Kruskal-Wallis: H ( 11, N= 1705) = 35,6; p = 0,0002</b>												

**Legenda:** Valores médios afectados pela mesma letra não são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Dezembro é o mês que apresenta menor média (1,52 Log ufc/g) enquanto o mês de Junho apresenta a maior (1,96 Log ufc/g). Verifica-se a existência de dois conjuntos de resultados. Um conjunto relativo aos meses de Maio até Novembro que registaram uma média de contagens superior a 1,7 Log e portanto uma maior contaminação fecal relativamente aos meses de Dezembro a Abril, com médias inferiores a 1,7 Log ufc/g.

A figura 17 apresenta a distribuição mensal das amplitudes e médias de contagens de *E.coli*. Verifica-se que apesar da existência dos grupos identificados, em todos os meses foram registadas contagens superiores ao limite aceitável (>3,5 Log), com excepção dos meses de Março e Dezembro.

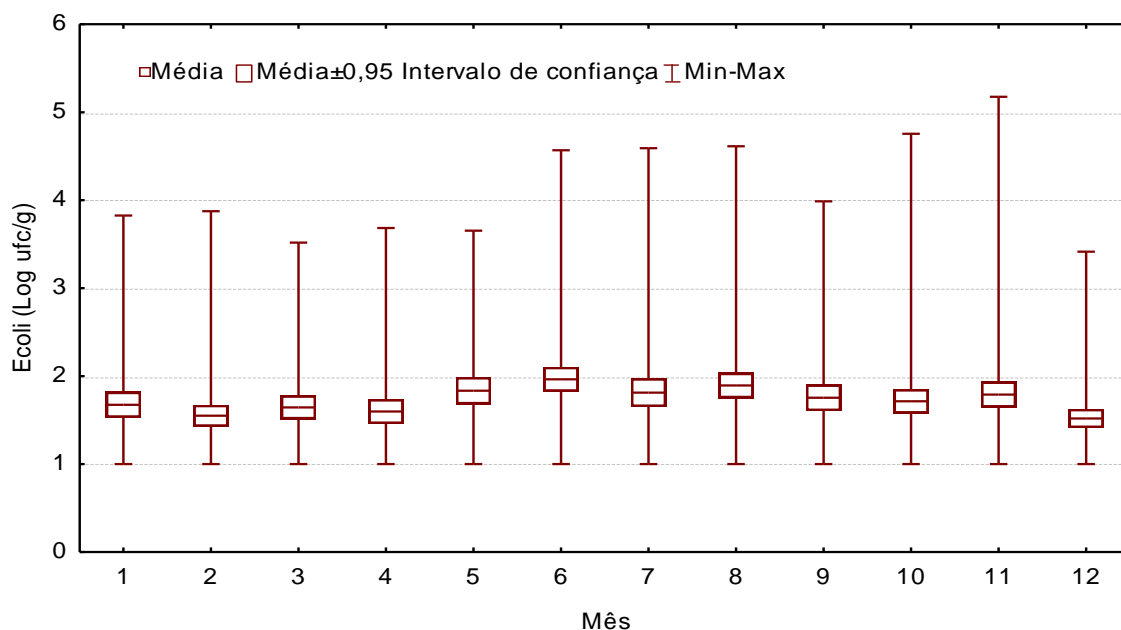


Figura 17 – Representação dos valores Médios das contagens de *E.coli* por mês, respectivos intervalos de confiança e amplitude.

O Quadro 17 apresenta as médias das contagens de *E.coli* por fábrica e indica que as contagens entre fábricas são significativamente diferentes com 99,9% de confiança ( $p=0,0000$ ).

**Quadro 17** – Resultado do teste de Kruskal-Wallis e médias das contagens de *E.coli* em relação às fábricas

Fábrica	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>E.Coli</i> (Log ufc/g)	2,53 <sup>e</sup>	1,27 <sup>a</sup>	1,43 <sup>ab</sup>	2,11 <sup>de</sup>	1,69 <sup>cd</sup>	1,73 <sup>c</sup>	1,51 <sup>bc</sup>	2,34 <sup>e</sup>
Kruskal-Wallis: H ( 7, N= 1705) = 487,68; $p = 0,0000$								

**Legenda:** Valores médios seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

As fábricas que apresentam maiores médias de *E.coli* são as fábricas 1, 4 e 8. A média da fábrica 1 é superior ao nível de satisfatório. As indústrias com menor contaminação por *E.coli* são as fábricas 2, 3 e 7 o que indica a aplicação dos protocolos de higiene.

A figura 18 apresenta as amplitudes e médias das contagens de *E.coli* por fábrica.

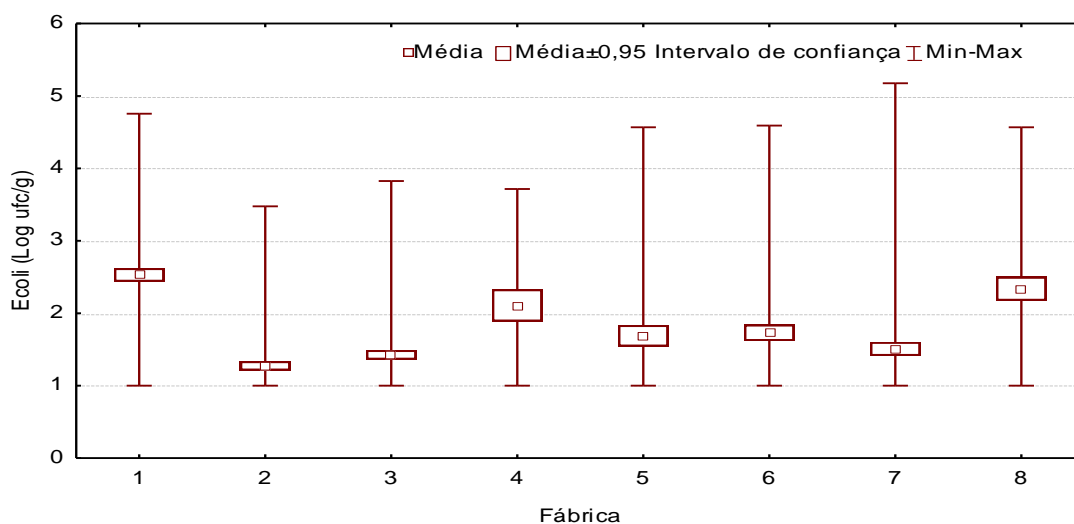


Figura 18 – Representação dos valores Médios das contagens de *E.coli* por fábrica, respectivos intervalos de confiança e amplitude.

As médias mais elevadas registadas (fábricas 1, 4 e 8) sugerem uma frequência regular de resultados insatisfatórios. Constata-se ainda que apenas a fábrica 2 não ultrapassou o limite aceitável definido no Regulamento (CE) nº1441/2007.

#### 4.4. Critério de Higiene

No Quadro 8, apresentou-se a transposição das 1705 amostras recolhidas em 341 subamostras de 5 unidades (N=5). Esta transposição é fundamental para se analisar o critério de higiene (contagem de *E.coli*) de acordo com o Regulamento (CE) n.º 1441/2007.

Os resultados revelam-se satisfatórios (S) se nas 5 unidades amostradas, todas forem inferiores a  $5,0 \times 10^2$  ufc/g. Caso dois resultados das 5 unidades apresentarem valores superiores a  $5,0 \times 10^2$  e inferiores a  $5,0 \times 10^3$  ufc/g declara-se aceitável (A), sendo apenas necessário encontrar um resultado superior a  $5,0 \times 10^3$  ufc/g para a amostra ser considerada insatisfatória (I).

A figura 19 apresenta os resultados globais da aplicação do critério de higiene.

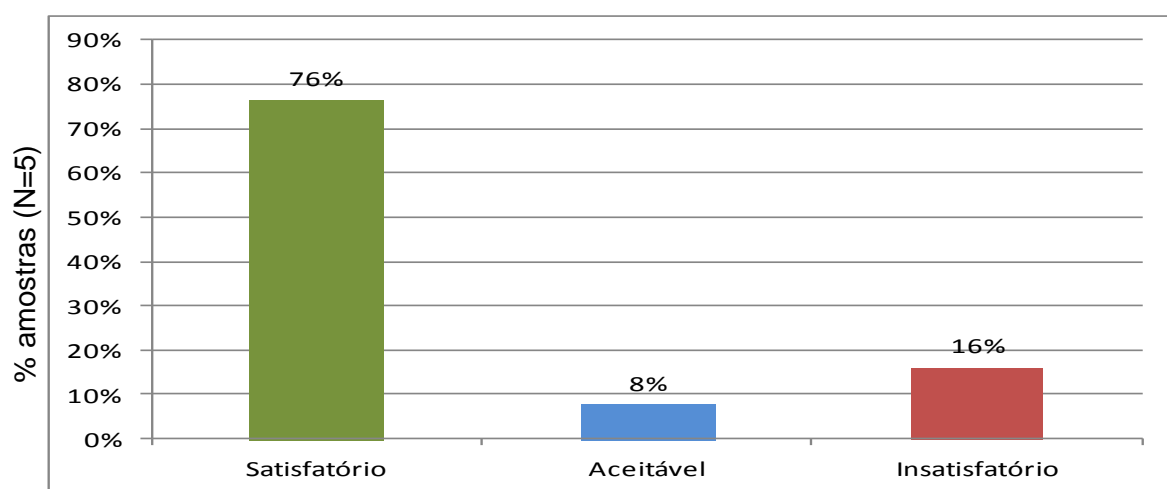


Figura 19 – Resultados globais da aplicação do critério de higiene

Foram encontrados no período de estudo 76% de resultados satisfatórios, 8% aceitáveis e 16% de insatisfatórios (figura 19). Os resultados indicados são significativamente diferentes ( $\text{Qui}^2=286,282$ ) com 99,9% de confiança ( $P < 0,0001$ ).

Da figura 19 destaca-se que de uma forma geral os resultados são satisfatórios, e que juntamente com os aceitáveis somam cerca de 84%. O facto de se realizar aqui a análise dos resultados em conjuntos de N=5 amostras, diminuiu a frequência de satisfatórios e aceitáveis, relativamente à análise das contagens isoladas de *E.coli* (ver 4.3.2).

A figura 20 representa a distribuição anual dos níveis do critério de higiene relativamente à totalidade das amostras (N=5), não existindo entre cada classe (Satisfatório, Aceitável, Insatisfatório - SAI) diferenças estatísticas significativas ( $\text{Qui}^2=6,824$ ) ( $P=0,556$ ) (Anexo3; QuadroA302). Contudo, verifica-se uma variação do nível de casos satisfatórios entre os vários anos (Anexo3; QuadroA301), isto é, os resultados da categoria satisfatória nos vários anos são significativamente diferentes entre si ( $p < 0,0001$ ).

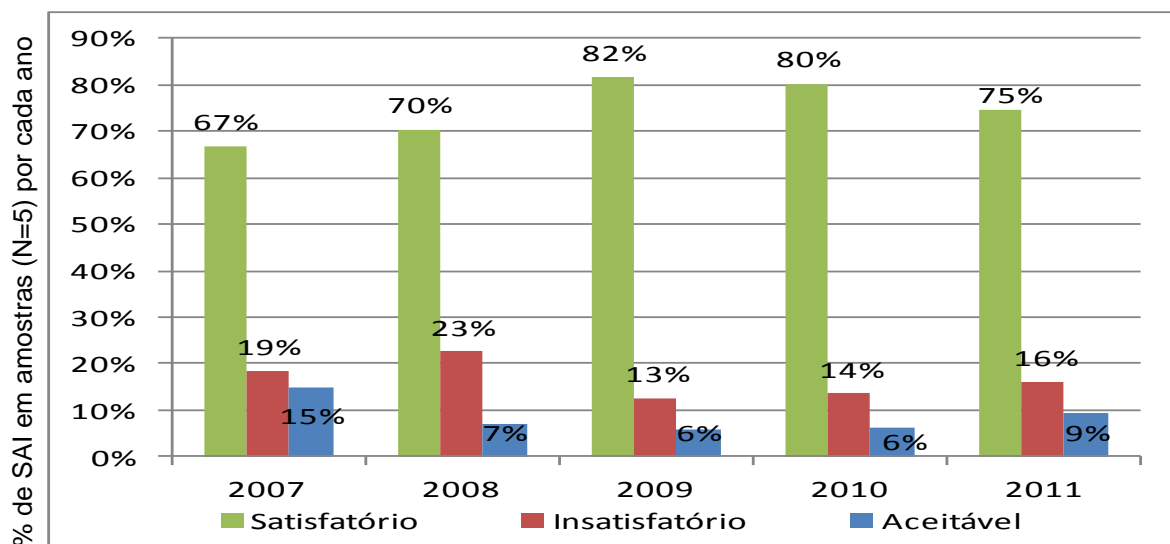


Figura 20 – Distribuição anual dos resultados do critério de higiene (em relação às N=5 amostras de cada ano)

A maioria das N=5 amostras apresenta-se satisfatória. O nível de resultados insatisfatórios do critério de higiene foi relativamente constante, apesar de se ter verificado um decréscimo da sua frequência desde 2008 até 2011, ano onde se encontrou uma ligeira subida de resultados insatisfatórios e de aceitáveis. Estes factos podem traduzir um esforço dos fabricantes na aplicação e manutenção de boas práticas de fabrico/higiene (BPF/H) desde 2008 a 2010, tendo eventualmente ocorrido um abrandamento da aplicação dos protocolos de higiene em 2011.

A figura 21 apresenta os resultados do critério de higiene por cada produtor no universo da amostragem realizada em cada fábrica.

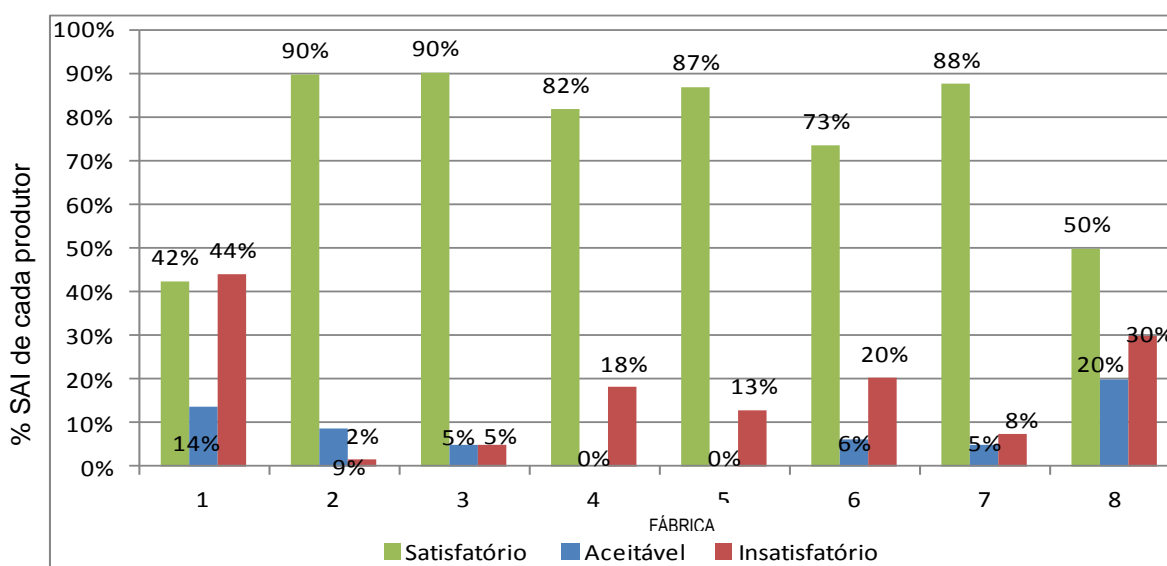


Figura 21 - Resultados para o critério de higiene de todos os produtores (2007 – 2011)



O teste Qui<sup>2</sup> revelou que com 99,9% de confiança ( $p < 0,0001$ ) existe diferença significativa (Qui<sup>2</sup> = 73,145) entre os resultados de todos os produtores (Anexo3; QuadroA303). Em termos de classificação das classes do critério de higiene, as maiores diferenças surgiram entre as várias amostras satisfatórias e insatisfatórias (anexo3 QuadroA301).

Nos diversos produtores avaliados o nível de resultados satisfatórios apresentou elevada variação, entre 90% (Fábrica 3) e 42% (fábrica1). Por outro lado, em termos de resultados insatisfatórios, verificou-se um preocupante nível de 44% no produtor 1 que contrasta com 2% de insatisfatórios no produtor 2. Os resultados dos produtores 4 e 5 sugerem que, por vezes, as BPH não são consistentes, isto é, provavelmente só após a receção dos resultados é que as práticas de higiene são reforçadas, uma vez que os resultados encontrados nos produtos dessas indústrias oscilam entre insatisfatórios e satisfatórios, nunca sendo aceitáveis.

A figura 22 apresenta os resultados do critério de higiene de todos os anos de estudo divididos por semestre. Os níveis de higiene evidenciados são na sua maioria satisfatórios, notando-se no entanto um ligeiro aumento dos insatisfatórios no semestre PRI/VER, influenciado pelas frequências de insatisfatórios revelados nos meses de Junho, Agosto e Setembro (Anexo3; Quadro304). No conjunto dos resultados não existe diferença significativa (Qui<sup>2</sup>=2,919) ( $p = 0,232$ ) entre semestres. O mesmo acontece entre cada categoria de cada nível de higiene (Anexo3; QuadroA301).

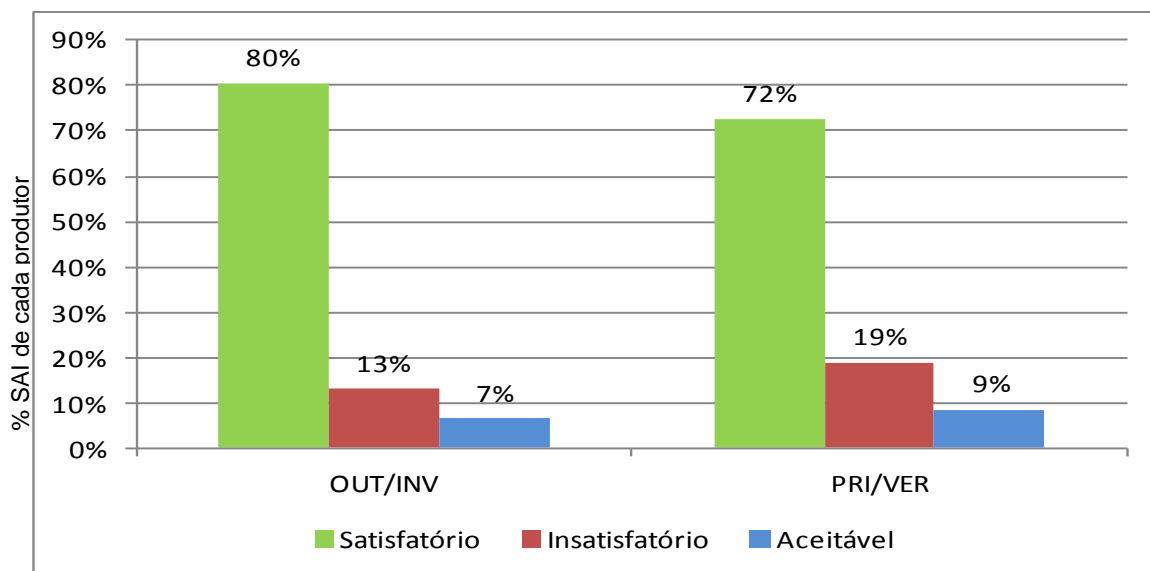


Figura 22 – Resultados do critério de higiene no conjunto dos semestres

A figura 23 apresenta o resultado do critério de higiene relativo a cada semestre de cada ano de estudo. As percentagens apuradas referem-se às amostras de cada classe (SAI) por total de amostras semestral.

Dentro de cada classe, não existem diferenças significativas (com 95% de confiança), ou seja, os satisfatórios não diferem entre si significativamente, tal como os resultados aceitáveis e os insatisfatórios (Anexo3;Quadro A301).

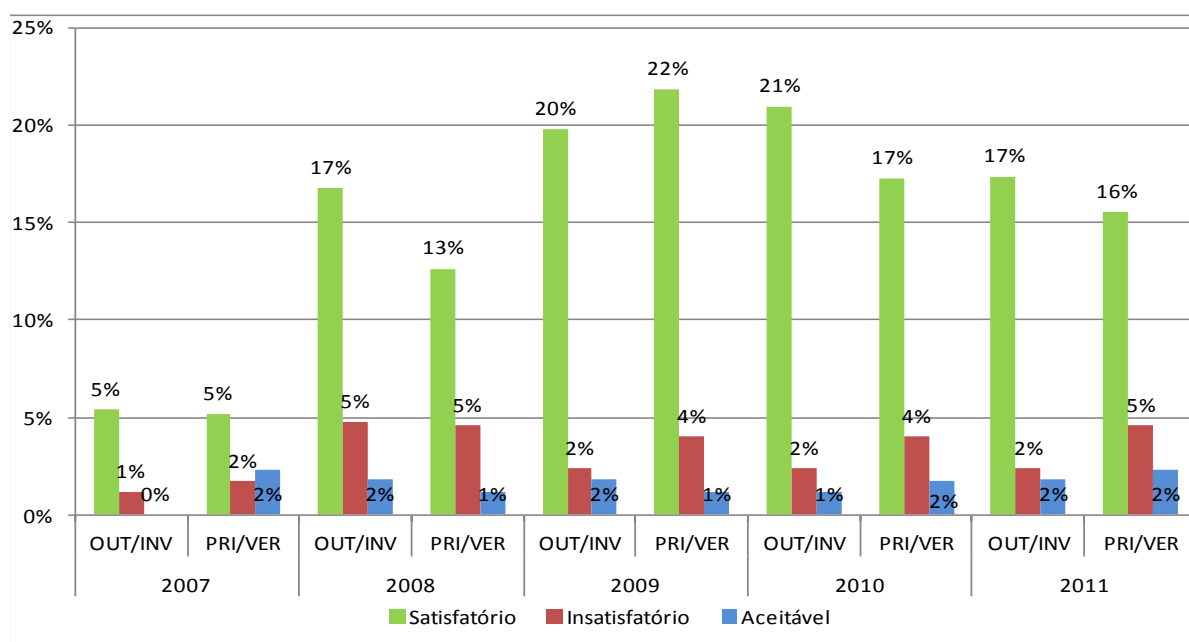


Figura 23 – Resultados do critério de higiene, por ano e por semestre

Os níveis de higiene por semestre de cada ano mantêm-se relativamente constantes e confirmam de algum modo os apresentados e descritos na figura 20. Os resultados insatisfatórios variaram entre 1% e 5%. A frequência de 5% de insatisfatórios verificou-se nos dois semestres 2008 e PRI/VER 2011, que conforme a leitura da figura 20 sugere uma diminuição da aplicação dos protocolos de higiene.

## 5. Propostas de Boas Práticas de Fabrico

No Regulamento (CE) 178/2002 é instituído no seu artigo 7.º o princípio da precaução: *“Nos casos específicos em que, na sequência de uma avaliação das informações disponíveis, se identifique uma possibilidade de efeitos nocivos para a saúde, mas persistam incertezas a nível científico, podem ser adoptadas as medidas provisórias de gestão dos riscos necessárias para assegurar o elevado nível de protecção da saúde por que se optou na Comunidade, enquanto se aguardam outras informações científicas que permitam uma avaliação mais exaustiva dos riscos”*. Neste contexto, considerando que a ubiquidade característica de *Salmonella* coíbe a sua total erradicação, é de extrema importância indicar algumas medidas que podem auxiliar no controlo deste agente infeccioso. Este raciocínio pode igualmente ser utilizado para o controlo de outros microrganismos contaminantes como a *Escherichia coli*.

### **Animais**

Deverá existir um forte empenho dos criadores, fabricantes de rações e entidades fiscalizadoras no escrupuloso cumprimento do estipulado no Regulamento CE 178/2002, artigo 15º, secção 4, relativo aos requisitos de segurança dos alimentos para animais, além dos habituais controlos veterinários sobre o estado sanitário dos mesmos.

O controlo de patogénicos na “quinta”, acompanhado de um rigoroso controlo veterinário e práticas de higiene *ante-mortem*, poderão promover um decréscimo de resultados positivos de *Salmonella*, nos preparados frescos de carne e em concomitância nas salsichas frescas. Um possível método de controlo pode consistir em suplementar a ração com culturas de microrganismos produtores de bacteriocinas ou mesmo probióticos, promovendo dessa forma uma competição com os patogénios eventualmente, presentes.

A realização efetiva do jejum nas 12 a 24 h prévias ao abate é essencial na drenagem intestinal dos animais produtores de géneros alimentícios. A elevada pressão económica por parte dos mercados e as necessidades de retorno financeiro dos operadores impedem que a dieta líquida seja sempre uma realidade. Um compromisso organizativo entre suinicultores, matadouros e cadeia de distribuição contribuirá certamente, para a segurança alimentar.

O escoamento de animais para diversos matadouros a partir de uma suinicultura pode significar a disseminação de *Salmonella* na fileira da carne, constituindo elevado risco para a saúde pública. A recepção de carne proveniente de matadouros, eventualmente contaminada, nas unidades de fabrico de preparados de carne torna improfícuas quase todas as acções e medidas de higiene que se possam aplicar, no fabrico de salsicha fresca. Desta forma, a aplicação do sistema HACCP, com particular atenção, na produção primária

deverá ser uma realidade, promovendo a criação de mecanismos que contrariem a tendência normal de contaminação dos animais.

## **Processos**

### **Abate:**

No encaminhamento dos animais para o atordoamento e posterior sangria, a realização de uma lavagem dos mesmos com um duche de água tépida sob pressão pode contribuir para reduzir substancialmente a carga microbiana ao nível da pele. Em alternativa, Toldrá (2010) indica que para reduzir a população microbiana externa dos animais pode ser usado uma “pasteurização” química (e.g.: solução de cloro).

A aplicação de uma solução clorada prévia sobre a carcaça pós escaldão e pré evisceração contribuirá possivelmente para a redução da microbiota instalada nos animais.

A evisceração não pode ser executada com rompimento dos canais intestinais e estômago. Caso contrário, passaremos a ter, de forma geral, carcaças e consequentemente carnes contaminadas. Uma evisceração com procedimentos apropriados reduz o derrame do conteúdo intestinal e biliar que pode conter *Salmonella* (Sofos, 2005). A maior parte das *E.coli* da pele, são depositadas nas zonas posteriores durante o abate (Sofos, 2005). Caso accidentalmente ocorram os derrames referidos a lavagem da carcaça deve ser realizada com soluções de ácidos orgânicos (e.g.: ácido acético, cítrico), desde que seja efectuada sob pressão, de sentido único (de cima para baixo) e com duração de cerca de 20 a 30 segundos por animal. Este método pode ser implantado na linha de abate, como um processo pós-evisceração, independentemente de terem ocorrido os derrames referidos.

### **Manipulação**

A manipulação é uma fonte de contaminação. Desta forma, todos os operadores de transformação de carne, devem ser formados no sentido de obter uma licença de manipuladores de carne. Essa formação não se deve limitar unicamente à “tradicional” formação em sala, devendo ser promovida a formação prática, em regras de higiene, insistindo na importância da regular troca e desinfecção das facas e na higienização das mãos.

### **Tripa**

Relativamente à tripa, em Portugal, utiliza-se normalmente tripa de carneiro importada regularmente de países com baixos níveis de exigências de higiene.

Para efeitos de segurança do produto final, os importadores deveriam ser obrigados a salvaguardar a qualidade higiénica da tripa.

Como acção prévia à respectiva utilização, os produtores de salsicha deveriam, além da normal dessalinização da tripa, executar uma desinfecção da mesma com peróxido de

hidrogénio, ou acidificá-la com ácido acético, 12 horas antes da sua utilização, como medida preventiva de contaminação.

### *Produto*

Nas salsichas frescas analisadas para determinação da durabilidade comercial (ver 2.2.3), os conservantes adicionados estavam presentes em quantidades inferiores às legalmente aceites. O aumento da dose de conservantes até concentrações próximas dos valores máximos admissíveis, sem comprometer a qualidade organoléptica, poderá contribuir para estabilizar, por um período mais alargado, a qualidade bacteriológica da salsicha fresca.

No fabrico de salsicha fresca, a água clorada com níveis próximos do máximo recomendado pela OMS (0,6 mg/L) pode auxiliar no controlo da microbiota.

### *Cadeia de frio*

A refrigeração é a forma de controlo bacteriológico disponível mais utilizada. Normalmente, encontra-se a rede de frio programada até +4 °C. A descida da temperatura programada para um máximo de 2 °C, pode constituir um expressivo aumento da barreira à proliferação microbiana em carne e produtos cárneos frescos.

### *Consumidor*

Alguns casos de salmonelose, reportados pela EFSA, foram causados pelo consumo de carne crua ou inadequadamente cozinhada. Esta conclusão permite mostrar a necessidade de realizar campanhas de informação ao consumidor, como sucedeu relativamente às cinco chaves para a Segurança Alimentar (ver 1.1).

### *“Novos” métodos tecnológicos*

#### **Armazenamento com Ultravioletas (UV):**

A radiação ultravioleta (UV) é uma alternativa crescente para a desinfecção (Baracuh, 2007) de diversas matrizes (e.g.: água e ar) e pode ser utilizada em câmaras frigoríficas (<http://portuguese.alibaba.com>). Normalmente, emprega lâmpadas de baixa pressão de vapor de mercúrio. O comprimento de onda de maior efeito bactericida é o de 254 nm (gama de UV-C). A radiação UV, aprovada pela FDA em 2002, é absorvida por diferentes componentes e estruturas fundamentais das células, entre elas as membranas e o DNA, através de reações fotoquímicas que prejudicam o seu funcionamento normal e causam a posterior inactivação e morte dos microrganismos (e.g.: bactérias, fungos). A eficácia da radiação UV não depende do pH nem da temperatura.

A utilização deste tipo de lâmpadas (no final da linha de abate, nas câmaras frigoríficas) pode ser uma solução de redução de contaminação em carnes.

## 6. Conclusões

As preferências dos consumidores têm evoluído continuamente ao longo dos tempos. Exemplo disso é o aumento da procura de produtos alimentares mais próximos do estado de fresco, nos quais a redução da incidência e níveis dos perigos microbiológicos na produção primária assume, cada vez mais, uma maior importância (Mead, 2007). Esta procura e o grau de alto risco associado a produtos como a salsicha fresca, implicou que pela parte das entidades governamentais tenham ocorrido actos legislativos para conferir um controlo mais efectivo da qualidade microbiológica dos produtos e consequentemente assegurar um elevado nível de protecção da saúde pública.

De forma a assegurar a qualidade dos alimentos e respondendo à legislação, os fabricantes implementaram sistemas de segurança alimentar, baseados nos princípios do HACCP e efectuam, regularmente, estudos sobre a vida útil dos produtos alimentares que fabricam, que incidem essencialmente na vertente da segurança alimentar. No caso concreto da salsicha fresca, e nos estudos analisados, a durabilidade de cinco dias revelou-se adequada, desde que se mantenha a cadeia de frio, até +4 °C.

A presença de *Salmonella*, quando detectada na salsicha fresca, pode constituir um risco de elevada gravidade para o consumidor, pelo facto de que quando esse resultado analítico é emitido, a recolha do produto poderá ser infrutífera se já tiver ocorrido a sua comercialização e eventualmente o respectivo consumo. Pelo contacto diário com diversos produtores, da região em estudo, percebeu-se alguma falta de consciencialização relativa à necessidade de realizar um programa de combate à *Salmonella*. Prova disso foi a entrada em vigor dos regulamentos de controlo microbiológico oficiais em 2005, só se notando uma redução significativa do número de resultados positivos ao longo do ano de 2009.

No período analisado (2007-2011), a maioria das amostras (95,1%), apresentaram-se satisfatórias para o critério de Segurança, isto é, ausência de *Salmonella*. As 4,9% de amostras insatisfatórias representaram um risco efectivo para a saúde pública, de gravidade considerável uma vez que a *Salmonella* é um agente infeccioso responsável por grande parte das toxinfecções alimentares de origem bacteriana. Apesar desta prevalência de *Salmonella* em salsicha fresca, verificou-se uma redução dos resultados positivos, desde 2009 (3,2%) relativamente à percentagem de amostras positivas registadas nos anos 2007 e 2008 (11%). Nos anos 2010 e 2011 a prevalência de *Salmonella* é de 2%. Este facto pode indicar que a cadeia alimentar em geral e os produtores em particular estão a conseguir controlar este agente infeccioso. Este esforço reflectir-se-á numa maior protecção da saúde pública e consequentemente na confiança do consumidor.

Relativamente ao nível de higiene (contagem de *E.coli*), foi globalmente satisfatório em quase todos os fabricantes. Registaram-se 76% de resultados satisfatórios, 8% de

aceitáveis e 16% de insatisfatórios. A partir deste facto, pode-se concluir que as fábricas apresentavam planos de HACCP bem implementados e adequados à sua realidade assim como boas práticas de higiene (BPH) consistentes. Contudo, os produtores 1 e 8 apresentaram alguma intermitência na aplicação das BPH, uma vez que apresentaram elevados resultados insatisfatórios com frequências de 44% e 30% respectivamente, no período considerado. Os produtores 4 e 5 revelaram também alguma inconsistência nos níveis de higiene, apesar das elevadas percentagens de satisfatórios (82 e 87%, respectivamente). Verificou-se, nestes fabricantes, elevadas contagens de *E.coli* (N=5) seguidas de baixas contagens, o que pode significar um abrandamento e inconsistência na aplicação das medidas de higiene até à recepção dos resultados que indicavam contagens elevadas de *E. coli*.

No período estudado, as maiores diferenças verificadas em termos de classificação do critério de higiene, surgiram entre as várias fábricas avaliadas, quer em termos de amostras satisfatórias, quer de insatisfatórias (Anexo3, QuadroA301). Em termos temporais a principal diferença observada resultou da variação da percentagem de casos satisfatórios entre os anos em estudo, não se identificando diferenças significativas nas três classes (SAI), entre anos e/ou semestres. Foi registado um aumento de 67% para 75% de resultados satisfatórios de 2007 para 2011. Em sentido oposto, os resultados insatisfatórios diminuíram de 23% em 2008 para 16% no ano de 2011.

A presença de *Salmonella* spp, no presente estudo, não se revelou associada às elevadas contagens de *Escherichia coli* nas mesmas amostras ( $R^2=0,01$ ). Neste sentido, e embora não seja exactamente o mesmo, o painel BIOHAZ da AESA concluiu não ser possível estabelecer uma correlação entre as contagens de *Enterobacteriaceae* e a presença de *Salmonella* (Regulamento CE n.º 1441/2007 – consideração n.º 3). Neste trabalho, os resultados satisfatórios (90,1%) do critério de higiene da fábrica 3, não foram acompanhados por percentagens, semelhantes em relação à pesquisa de *Salmonella*, onde ocorreram 16 resultados positivos de *Salmonella* desde 2008 até 2011. Por outro lado, no produtor 1, ocorreram elevadas frequências de resultados de higiene insatisfatórios (44%) e no entanto apenas foi encontrada *Salmonella* em seis amostras (2%).

O estudo que aqui se apresentou mostra que nos 5 anos apreciados (2007-2011), os produtores de salsicha fresca aplicaram com relativo sucesso a estratégia europeia, no combate à *Salmonella*. Exemplo disso é a significativa redução de 82% de resultados positivos desse agente infeccioso, no referido período. Relativamente ao critério de higiene baseado na contagem de *E.coli* verificou-se também uma redução de insatisfatórios em 30% entre 2008 e 2011.

Desta forma, uma contínua aplicação de boas práticas de higiene e a formação do pessoal, articuladas com soluções técnicas em todas as fases da fileira da carne poderá

permitir aos fabricantes promover uma menor frequência de resultados insatisfatórios na salsicha fresca, sejam de *Salmonella* ou de *E.coli* e, simultaneamente, permitir incrementar os índices de confiança neste tipo de produtos frescos que se enquadram na gama de produtos com potencial de crescimento e consequentemente de retorno económico para os produtores.



## 7. Bibliografia

- Baracuh, C. (2007) – Efeito bactericida da luz solar e de lâmpada UV usando TIO<sub>2</sub> sobre diferentes materiais - Universidade Federal de Campina Grande, disponível em <http://www.coenge.ufcg.edu.br>, consultado a 26 de Setembro de 2012.
- Bernardo, F. (2006) – *Perigos sanitários nos alimentos* - Revista Segurança e Qualidade Alimentar, n.º1, edição de Novembro.
- Esteves, A., Saraiva, C., Fontes, M., Martins, C. (2006) – *Qualidade higiénica e segurança de produtos de Salsicharia transmontana de produtores particulares* – Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias n.º557-558, Janeiro a Junho 2006.
- *Internacional haccp aliançe* (1994) - *Internacional haccp aliançe description* - disponível em <http://www.haccpalliance.org>, consultado a 4 de Junho de 2012.
- Ramos, C. e Simões, S. (2006) – *Métodos para identificação de Escherichia coli na Industria Alimentar* - Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias n.º557-558, Janeiro a Junho 2006.
- Sales, S., Costa, F., Alves, L., Barrozo, L., Holanda-Viana, A., Leal-Mesquita, E., Neto, V. (2006) – *Ocorrência de Escherichia coli produtora de toxinas “Shiga” (STEC) na microbiota intestinal de bovinos destinados ao abate no município de São Luís – MA/Brasil* - Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias n.º559-560, Julho a Dezembro 2006.
- Anderson, M. e Pascual, V. (2000). *Microbiologia alimentaria: Metodologia analítica para alimentos y bebida* - 2ª Ed. Ediciones Diaz de Santos, disponível em <http://www.repository.utl.pt/>, consultado em 25 de Abril de 2012.
- *Business listing.com* (2012) - Detectores de Metais em alimentos, disponível em <http://pt.business-listings.com/>, consultado a 19 de Maio de 2012.
- Cadima, J. (2010) – Modelação estatística II – disponível em <http://www.isa.utl.pt>, consultado a 8 de Setembro de 2012.
- *Codex Alimentarius comission* (2003) - *General Principles of Food Hygiene* - CAC/RCP 1-1969 Rev. 4 - disponível em <http://www.codexalimentarius.net>, consultado a 7 de Janeiro de 2012.
- *Codex Alimentarius comission* (2005) - *Code of Hygienic Practice for Meat* - CAC/RCP 58 - disponível em <http://www.codexalimentarius.net>, consultado a 7 de Janeiro de 2012.
- *Condalab* (2012) - *E.Coli, Coliforms Chromogenic Agar* - disponível em <http://www.condalab.com>, consultado a 15 de Abril de 2012.

- Correia, P. (2009) - Nomenclatura Comum das Unidades Territoriais Estatísticas, disponível em <http://pt.wikipedia.org>, consultado a 13 de Maio de 2012,
- Davies, A., Board, R. (1998) - *The microbiology of meat and poultry* - Blackie academic & professional – UK.
- Decreto - Lei n.º 192/89, de 8 de Junho fixa os princípios orientadores da utilização dos aditivos alimentares nos géneros alimentícios.
- Decreto - Lei n.º 62/96, de 25 de Maio transpõe para a ordem jurídica interna, a Directiva n.º 94/65/CE, do Conselho, de 14 de Dezembro, que institui os requisitos de produção e de colocação no mercado de carnes picadas e de preparados de carne.
- Decreto - Lei n.º 363/98 de 19 de Novembro transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva n.º 2006/52/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 5 de Julho, rectificada pelo *Jornal Oficial da União Europeia*, n.º L 78, de 17 de Março de 2007, que altera a Directiva n.º 95/2/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de Fevereiro, relativa aos aditivos alimentares, com excepção dos corantes e dos edulcorantes, e a Directiva n.º 94/35/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 30 de Junho, relativa aos edulcorantes para utilização nos géneros alimentícios.
- Decreto - Lei n.º 556/99 de 16 de Dezembro que transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva n.º 94/65/CE, do Conselho, de 14 de Dezembro, que institui os requisitos de produção e de colocação no mercado de carnes picadas e de preparados de carne, bem como a rectificação à mesma, publicada no *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, n.º. L 127, de 29 de Abril de 1998.
- Decreto - Lei n.º 560/99, de 18 de Dezembro que estabelece as regras a que deve obedecer a rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios.
- Decreto - Lei n.º 306/2007 de 27 de Agosto estabelece o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano.
- Decreto - Lei n.º 33/2008 de 25 de Fevereiro transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva n.º 2006/52/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 5 de Julho, rectificada pelo *Jornal Oficial da União Europeia*, n.º L 78, de 17 de Março de 2007, que altera a Directiva n.º 95/2/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de Fevereiro, relativa aos aditivos alimentares, com excepção dos corantes e dos edulcorantes, e a Directiva n.º 94/35/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 30 de Junho, relativa aos edulcorantes para utilização nos géneros alimentícios.
- Decreto - Lei n.º 209/2008 de 29 de Outubro aprova o regime de exercício da actividade industrial (REAI).
- Decreto - Lei n.º 120/2011 de 28 de Dezembro que estabelece os critérios de pureza específicos dos corantes que podem ser utilizados nos géneros alimentícios.

- Diakos, A., Borges, M. (2011) – Riscos e Alimentos – n.º1 Julho de 2011, Página 10-16, disponível em [www.asae.pt](http://www.asae.pt), consultado em 3 de Junho de 2012.
- Directiva 1999/2/CE do Parlamento Europeu e do Conselho relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes aos alimentos e ingredientes alimentares tratados por radiação ionizante e respectiva lista das autorizações dos Estados-Membros de alimentos e ingredientes alimentares que podem ser tratados por radiação ionizante, disponível em <http://ec.europa.eu/>, consultado a 10 de Agosto
- DGAV – Direcção Geral de Alimentação e Veterinária – Lista dos estabelecimentos aprovados de produção e desmancha de carne - disponível em <http://www.dgv.min-agricultura.pt>, consultado a 12 de Julho de 2012.
- Duarte, C. (2010) – Controlo de qualidade aplicado ao desenvolvimento de novos produtos – Escola Superior Agrária de Coimbra, disponível em <http://www.esac.pt/noronha/> consultado a 10 de Abril de 2012.
- Eagle (2012) - *X-ray inspection System*- disponível em [www.eaglepi.com](http://www.eaglepi.com), consultado a 19 de Maio de 2012.
- EFSA (2007) - *Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2006* - disponível em <http://www.efsa.europa.eu>, consultado a 4 e 5 de Fevereiro de 2012.
- EFSA (2008) - *Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2007* - disponível em <http://www.efsa.europa.eu>, consultado a 12 de Fevereiro de 2012.
- EFSA (2009) - *Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2008* - disponível em <http://www.efsa.europa.eu>, consultado a 12 de Fevereiro de 2012.
- EFSA (2012) - *Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010* - disponível em <http://www.efsa.europa.eu>, consultado a 11 e 12 de Fevereiro e a 23 de Junho de 2012.
- Ferreira, M.C., Fraqueza, M.J., Barreto, A.S. (2007) – *Avaliação do prazo de vida útil da salsicha fresca* – Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias n.º 561 – 562, Janeiro a junho 2007.
- Food Machinery Company Ltd. (2012) – Metal detectors - disponível em <http://www.foodmc.co.uk/>, consultado a 19 de Maio de 2012.
- ICMSF (1986) – *Microorganisms in foods 2 Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications* - 2nd edition - Blackwell Scientific Publications.

- ICMSF (2006) – *A simplified guide to understanding and using food safety and performance objectives* - disponível <http://www.icmsf.org/>, consultado a 18 de Fevereiro e 16 e 17 de Junho de 2012.
- Instituto Português de Qualidade (2006) - Norma Portuguesa NP 723/2006 – *Definição e Caracterização de Salsicha Fresca* - Monte da Caparica.
- Jay, J.; Loessner, M.; Golden, D. I (2005) – *Modern food microbiology* – 7<sup>th</sup> edition – Springer.
- Johnson Michael G.; Vaughn Reese H. (April 1969)- *Death of Salmonella typhimurium and Escherichia coli in the Presence of Freshly Reconstituted Dehydrated Garlic and Onion* - University of California at Davis, Davis, California 95616, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, consultado a 20 de Maio de 2012.
- Jórdan, G (2008) – *Análise de variância em SPSS* - disponível <http://www2.mat.ua.pt>, consultado a 8 de Setembro de 2012.
- Lacasse, D. (1995) – *Introdução à microbiologia alimentar* – Instituto Piaget.
- Mead, G.C. (2007) - *Microbiological analysis of red meat, poultry and eggs*- Woodhead Publishing Ltd.
- Novak, J., Gerald M., Vijak, K. (2003) – *Microbial Safety of minimally processed foods* – CRC press.
- Pedroso, L., Pereira, F., Morais, C., Santos, A. (2004) – *Perigos alimentares* – NISQA – Monte da Caparica.
- Alibaba.com - As lâmpadas UV bactericidas, disponível em <http://portuguese.alibaba.com>, consultado a 28 de Setembro de 2012.
- Prandl, O., Fischer, A., Schmidhofer, T., Sinel, H. (1994) – *Tecnologia e higiene da carne* – Editorial Acribia.
- Regulamento (CE) n.º 178/2002 de 28 de Janeiro que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) e estabelece ainda os procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios.
- Regulamento (CE) n.º 1059/2003 de 26 de Maio relativo à instituição de uma Nomenclatura Comum das Unidades Territoriais Estatísticas (NUTS).
- Regulamento (CE) n.º 852/2004 de 29 de Abril relativo à higiene dos géneros alimentícios.
- Regulamento (CE) n.º 853/2004 de 29 de Abril que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal.

- Regulamento (CE) n.º 37/2005 de 12 de Janeiro relativo ao controlo das temperaturas nos meios de transporte e nas instalações de depósito e armazenagem de alimentos ultracongelados destinados à alimentação humana.
- Regulamento (CE) n.º 396/2005 de 23 de Fevereiro de 2005 que estabelece os produtos abrangidos aos quais se aplicam limites máximos de resíduos de pesticidas.
- Regulamento (CE) n.º 2073/2005 de 15 de Novembro relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.
- Regulamento (CE) n.º 178/2006 de 1 de Fevereiro do Parlamento Europeu e do Conselho a fim de se estabelecer o seu Anexo I, que enumera os géneros alimentícios e os alimentos para animais aos quais se aplicam limites máximos de resíduos de pesticidas.
- Regulamento (CE) n.º 1881/2006 de 19 de Dezembro que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.
- Regulamento (CE) n.º 1441/2007 de 5 de Dezembro relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.
- Regulamento (CE) n.º 149/2008 de 29 de Janeiro do Parlamento Europeu e do Conselho que altera o Regulamento (CE) n.º 396/2005 ao criar os anexos II, III, IV que fixam limites máximos dos resíduos para os produtos abrangidos pelo anexo I do mesmo regulamento.
- Regulamento (CE) n.º 37/2010 de 22 de Dezembro de 2009 relativo a substâncias farmacologicamente activas e respectiva classificação no que respeita aos limites máximos de resíduos nos alimentos de origem animal.
- Regulamento (CE) n.º 365/2010 de 28 de Abril que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios no que diz respeito a *Enterobacteriaceae* no leite pasteurizado e noutros produtos lácteos líquidos pasteurizados e a *Listeria monocytogenes* no sal alimentar.
- Regulamento (CE) n.º 1169/2011 do parlamento europeu e do conselho de 25 de Outubro de 2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios, que altera os Regulamentos (CE) n.º 1924/2006 e (CE) n.º 1925/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho e revoga as Directivas 87/250/CEE da Comissão, 90/496/CEE do Conselho, 1999/10/CE da Comissão, 2000/13/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, 2002/67/CE e 2008/5/CE da Comissão e o Regulamento (CE) n.º 608/2004 da Comissão.
- Russel, N., Gould, G. (2003) – *Food preservatives* – 2<sup>nd</sup> edition – Plenum Publishers.
- Soares, M. (2003) – *Segurança Alimentar* – perigos biológicos e Químicos – Publicações ciência e Vida, Lda. – Colecção veterinária XXI, n.º9.

- Škrinjar, Marija M.; Nemet, Nevena T. (2009) - *Antimicrobial effects of spices and herbs essential oils* - disponível em <http://www.doiserbia.nb.rs>, consultado a 20 de Maio de 2012.
- Sofos, J. (2005) – *Improving the safety of fresh meat* - Woodhead Publishing Ltd.
- Sprenger, R. (2002) – *Hygiene for management* – 9<sup>th</sup> edition - Highfield publications.
- Toldrá, F. (2010) – *Handbook of meat processing* – 1<sup>st</sup> edition – Blackwell publishing.
- Van Schothorst, M. (2004). *A Simple Guide to Understanding and Applying the Hazard Analysis Critical Control Point Concept* - 3<sup>rd</sup> edition - ILSI, Bélgica., disponível em <http://www.ilsi-mexico.org/>, consultado a 7 de Junho de 2012.
- WHO (2006) - *Five Keys for Safer Food Manual* - disponível em <http://www.who.int/>, consultado a 13 de Maio de 2012.
- WHO (2008) - *10 Facts on food safety*, disponível em <http://www.who.int/>, consultado a 13 de Maio de 2012.
- Zeuthen P., Bugh-Sørensen, L. (2003) - *Food preservation techniques* Woodhead Publishing Ltd.

## 8. ANEXOS

## 8.1 ANEXO 1 – CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRAGEM



Quadro A101- Interação Mês * Ano			Ano					Total
Qui²=144,9; p=0,0000			2007	2008	2009	2010	2011	
Mês	1	Contagem	0 <sub>a</sub>	30 <sub>b</sub>	25 <sub>b</sub>	35 <sub>b</sub>	30 <sub>b</sub>	120
		% entre Mês	0,0%	25,0%	20,8%	29,2%	25,0%	100,0%
		% entre Ano	0,0%	8,5%	5,7%	8,6%	8,0%	<b>7,0%</b>
	2	Contagem	0 <sub>a</sub>	35 <sub>b</sub>	25 <sub>b</sub>	40 <sub>b</sub>	25 <sub>b</sub>	125
		% entre Mês	0,0%	28,0%	20,0%	32,0%	20,0%	100,0%
		% entre Ano	0,0%	9,9%	5,7%	9,9%	6,7%	<b>7,3%</b>
	3	Contagem	0 <sub>a</sub>	35 <sub>b</sub>	25 <sub>b</sub>	40 <sub>b</sub>	35 <sub>b</sub>	135
		% entre Mês	0,0%	25,9%	18,5%	29,6%	25,9%	100,0%
		% entre Ano	0,0%	9,9%	5,7%	9,9%	9,3%	7,9%
	4	Contagem	10 <sub>a, b, c</sub>	30 <sub>c</sub>	15 <sub>b</sub>	40 <sub>a, c</sub>	25 <sub>a, b, c</sub>	120
		% entre Mês	8,3%	25,0%	12,5%	33,3%	20,8%	100,0%
		% entre Ano	7,4%	8,5%	3,4%	9,9%	6,7%	<b>7,0%</b>
	5	Contagem	10 <sub>a</sub>	30 <sub>a</sub>	25 <sub>a</sub>	35 <sub>a</sub>	30 <sub>a</sub>	130
		% entre Mês	7,7%	23,1%	19,2%	26,9%	23,1%	100,0%
		% entre Ano	7,4%	8,5%	5,7%	8,6%	8,0%	7,6%
	6	Contagem	10 <sub>a</sub>	30 <sub>a</sub>	45 <sub>a</sub>	45 <sub>a</sub>	35 <sub>a</sub>	165
		% entre Mês	6,1%	18,2%	27,3%	27,3%	21,2%	100,0%
		% entre Ano	7,4%	8,5%	10,3%	11,1%	9,3%	<b>9,7%</b>
	7	Contagem	10 <sub>a</sub>	30 <sub>a</sub>	45 <sub>a</sub>	25 <sub>a</sub>	40 <sub>a</sub>	150
		% entre Mês	6,7%	20,0%	30,0%	16,7%	26,7%	100,0%
		% entre Ano	7,4%	8,5%	10,3%	6,2%	10,7%	8,8%
	8	Contagem	30 <sub>a</sub>	25 <sub>b</sub>	45 <sub>b</sub>	25 <sub>b</sub>	35 <sub>b</sub>	160
		% entre Mês	18,8%	15,6%	28,1%	15,6%	21,9%	100,0%
		% entre Ano	22,2%	7,0%	10,3%	6,2%	9,3%	<b>9,4%</b>
	9	Contagem	10 <sub>a, b</sub>	20 <sub>b</sub>	55 <sub>a</sub>	30 <sub>a, b</sub>	35 <sub>a, b</sub>	150
		% entre Mês	6,7%	13,3%	36,7%	20,0%	23,3%	100,0%
		% entre Ano	7,4%	5,6%	12,6%	7,4%	9,3%	<b>8,8%</b>
	10	Contagem	25 <sub>a</sub>	40 <sub>a, b</sub>	45 <sub>a, b</sub>	30 <sub>b</sub>	25 <sub>b</sub>	165
		% entre Mês	15,2%	24,2%	27,3%	18,2%	15,2%	100,0%
		% entre Ano	18,5%	11,3%	10,3%	7,4%	6,7%	<b>9,7%</b>
	11	Contagem	15 <sub>a</sub>	20 <sub>a</sub>	45 <sub>a</sub>	30 <sub>a</sub>	30 <sub>a</sub>	140
		% entre Mês	10,7%	14,3%	32,1%	21,4%	21,4%	100,0%
		% entre Ano	11,1%	5,6%	10,3%	7,4%	8,0%	<b>8,2%</b>
	12	Contagem	15 <sub>a</sub>	30 <sub>a</sub>	40 <sub>a</sub>	30 <sub>a</sub>	30 <sub>a</sub>	145
		% entre Mês	10,3%	20,7%	27,6%	20,7%	20,7%	100,0%
		% entre Ano	11,1%	8,5%	9,2%	7,4%	8,0%	<b>8,5%</b>
	Total	Contagem	<b>135</b>	<b>355</b>	<b>435</b>	<b>405</b>	<b>375</b>	1705
		% entre Mês	<b>7,9%</b>	<b>20,8%</b>	<b>25,5%</b>	<b>23,8%</b>	<b>22,0%</b>	100,0%
		% entre Ano	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Cada letra subscrita indica um subconjunto das categorias mês, cujas proporções por coluna **não diferem significativamente ao nível 0,05**.

**QuadroA102 - Interação FÁBRICA \* Ano**

Qui²=1421,0; p=0,000			Ano					Total
			2007	2008	2009	2010	2011	
FÁBRICA	1	Contagem	0 <sub>a</sub>	50 <sub>b</sub>	60 <sub>b</sub>	80 <sub>b, c</sub>	105 <sub>c</sub>	295
		% entre FABRICA	0,0%	16,9%	20,3%	27,1%	35,6%	100,0%
		% entre Ano	0,0%	14,1%	13,8%	19,8%	28,0%	17,3%
	2	Contagem	0 <sub>a</sub>	0 <sub>a</sub>	60 <sub>b</sub>	115 <sub>c</sub>	115 <sub>c</sub>	290
		% entre FABRICA	0,0%	0,0%	20,7%	39,7%	39,7%	100,0%
		% entre Ano	0,0%	0,0%	13,8%	28,4%	30,7%	17,0%
	3	Contagem	0 <sub>a</sub>	105 <sub>b</sub>	80 <sub>c</sub>	105 <sub>b, c</sub>	115 <sub>b</sub>	405
		% entre FABRICA	0,0%	25,9%	19,8%	25,9%	28,4%	100,0%
		% entre Ano	0,0%	29,6%	18,4%	25,9%	30,7%	23,8%
	4	Contagem	0 <sub>a, b</sub>	15 <sub>b</sub>	0 <sub>a</sub>	0 <sub>a</sub>	40 <sub>c</sub>	55
		% entre FABRICA	0,0%	27,3%	0,0%	0,0%	72,7%	100,0%
		% entre Ano	0,0%	4,2%	0,0%	0,0%	10,7%	3,2%
	5	Contagem	0 <sub>a, b</sub>	15 <sub>b, c</sub>	65 <sub>d</sub>	35 <sub>c</sub>	0 <sub>a</sub>	115
		% entre FABRICA	0,0%	13,0%	56,5%	30,4%	0,0%	100,0%
		% entre Ano	0,0%	4,2%	14,9%	8,6%	0,0%	6,7%
	6	Contagem	95 <sub>a</sub>	120 <sub>b</sub>	30 <sub>c</sub>	0 <sub>d</sub>	0 <sub>d</sub>	245
		% entre FABRICA	38,8%	49,0%	12,2%	0,0%	0,0%	100,0%
		% entre Ano	70,4%	33,8%	6,9%	0,0%	0,0%	14,4%
	7	Contagem	0 <sub>a</sub>	0 <sub>a</sub>	130 <sub>b</sub>	70 <sub>c</sub>	0 <sub>a</sub>	200
		% entre FABRICA	0,0%	0,0%	65,0%	35,0%	0,0%	100,0%
		% entre Ano	0,0%	0,0%	29,9%	17,3%	0,0%	11,7%
	8	Contagem	40 <sub>a</sub>	50 <sub>b</sub>	10 <sub>c</sub>	0 <sub>d</sub>	0 <sub>d</sub>	100
		% entre FABRICA	40,0%	50,0%	10,0%	0,0%	0,0%	100,0%
		% entre Ano	29,6%	14,1%	2,3%	0,0%	0,0%	5,9%
Total		Contagem	135	355	435	405	375	1705
		% entre FABRICA	7,9%	20,8%	25,5%	23,8%	22,0%	100,0%
		% entre Ano	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Cada letra subscrita indica um subconjunto das categorias Ano, cujas proporções por coluna **não diferem significativamente no nível 0,05**

## 8.2. ANEXO 2 – CARACTERIZAÇÃO *SALMONELLA*

QuadroA201 - Interação Ano * Salmonela Pos Neg					
Qui²=59,3; p=0,000			Salmonela Pos Neg		Total
			Negativa	Positiva	
Ano	2007	Contagem	120 <sub>a</sub>	<b>15<sub>b</sub></b>	<b>135</b>
		% entre Ano	88,9%	<b>11,1%</b>	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	7,4%	17,9%	7,9%
	2008	Contagem	315 <sub>a</sub>	<b>40<sub>b</sub></b>	<b>355</b>
		% entre Ano	88,7%	<b>11,3%</b>	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	19,4%	47,6%	20,8%
	2009	Contagem	421 <sub>a</sub>	<b>14<sub>a</sub></b>	<b>435</b>
		% entre Ano	96,8%	<b>3,2%</b>	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	26,0%	16,7%	25,5%
	2010	Contagem	398 <sub>a</sub>	<b>7<sub>b</sub></b>	<b>405</b>
		% entre Ano	98,3%	<b>1,7%</b>	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	24,6%	8,3%	23,8%
	2011	Contagem	367 <sub>a</sub>	<b>8<sub>b</sub></b>	<b>375</b>
		% entre Ano	97,9%	<b>2,1%</b>	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	22,6%	9,5%	22,0%
Total		Contagem	<b>1621</b>	<b>84</b>	<b>1705</b>
		% entre Ano	95,1%	<b>4,9%</b>	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	100,0%	100,0%	100,0%
Cada letra subscrita indica um subconjunto das categorias Salmonela Pos Neg, cujas proporções por coluna <b>não diferem significativamente ao nível 0.05</b>					

QuadroA202- Interacção FABRICA * Salmonela Pos Neg					
Qui²= 92,7; p=0,000			Salmonela Pos Neg		Total
			Negativa	Positiva	
FABRICA	1	Contagem	289 <sub>a</sub>	6 <sub>b</sub>	295
		% entre FABRICA	98,0%	2,0%	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	17,8%	7,1%	17,3%
	2	Contagem	286 <sub>a</sub>	4 <sub>b</sub>	290
		% entre FABRICA	98,6%	1,4%	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	17,6%	4,8%	17,0%
	3	Contagem	389 <sub>a</sub>	16 <sub>a</sub>	405
		% entre FABRICA	96,0%	4,0%	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	24,0%	19,0%	23,8%
	4	Contagem	51 <sub>a</sub>	4 <sub>a</sub>	55
		% entre FABRICA	92,7%	7,3%	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	3,1%	4,8%	3,2%
	5	Contagem	112 <sub>a</sub>	3 <sub>a</sub>	115
		% entre FABRICA	97,4%	2,6%	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	6,9%	3,6%	6,7%
	6	Contagem	215 <sub>a</sub>	30 <sub>b</sub>	245
		% entre FABRICA	87,8%	12,2%	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	13,3%	35,7%	14,4%
	7	Contagem	198 <sub>a</sub>	2 <sub>b</sub>	200
		% entre FABRICA	99,0%	1,0%	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	12,2%	2,4%	11,7%
	8	Contagem	81 <sub>a</sub>	19 <sub>b</sub>	100
		% entre FABRICA	81,0%	19,0%	100,0%
		% entre Salmonela Pos Neg	5,0%	22,6%	5,9%
Total	Contagem	1621	84	1705	
	% entre FABRICA	95,1%	4,9%	100,0%	
	% entre Salmonela Pos Neg	100,0%	100,0%	100,0%	
Cada letra subscrita indica um subconjunto das categorias <i>Salmonella</i> Pos Neg, cujas proporções por coluna <b>não diferem significativamente entre elas ao nível 0,05</b>					

QuadroA203 - Interação Salmonela Pos Neg * Semestre					
Qui²= 2,944; p=0,086			Semestre		Total
			OUT/INV	PRI/VER	
Salmonela Pos Neg	Negativa	Contagem	790 <sub>a</sub>	831 <sub>a</sub>	1621
		% entre Salmonela Pos Neg	48,7%	51,3%	100,0%
		% entre Semestre	94,2%	96,0%	95,1%
	Positiva	Contagem	49 <sub>a</sub>	35 <sub>a</sub>	84
		% entre Salmonela Pos Neg	58,3%	41,7%	100,0%
		% entre Semestre	5,8%	4,0%	4,9%
Total	Contagem	839	866	1705	
	% entre Salmonela Pos Neg	49,2%	50,8%	100,0%	
	% entre Semestre	100,0%	100,0%	100,0%	
Cada letra subscrita indica um subconjunto das categorias semestre, cujas proporções por coluna <b>não diferem significativamente entre elas ao nível 0,05</b>					

### 8.3. ANEXO 3 – CRITÉRIO DE HIGIENE

**QuadroA301** - Resultados do teste de Qui<sup>2</sup> para cada categoria do Critério de Higiene, relativos aos vários anos, semestres, meses e fábricas

	Satisfatório	Aceitável	Insatisfatório
<b>Ano</b>	Qui <sup>2</sup> : (4; 260) = 32,81; p=0,000	Qui <sup>2</sup> : (4; 26) = 0,23; p=0,921	Qui <sup>2</sup> : (4; 55) = 5,64; p=0,228
<b>Mês</b>	Qui <sup>2</sup> : (11; 260) = 3,72; p=0,977	Qui <sup>2</sup> : (11; 26) = 7,23; p=0,780	Qui <sup>2</sup> : (11; 55) = 9,80; p=0,548
<b>Semestre</b>	Qui <sup>2</sup> : (1; 260) = 0,25; p=0,620	Qui <sup>2</sup> : (1; 26) = 0,62; p=0,433	Qui <sup>2</sup> : (1; 55) = 2,20; p=0,138
<b>Fábrica</b>	Qui <sup>2</sup> : (7; 260) = 101,85; p=0,000	Qui <sup>2</sup> : (7; 26) = 4,92; p=0,425	Qui <sup>2</sup> : (7; 55) = 68,78; p=0,000

**QuadroA302** - Interação Ano \* SatAcelns

Qui²= 6,8; p= 0,556		SatAcelns			Total	
		Aceitável	Insatisfatório	Satisfatório		
Ano	2007	Contagem	4 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	18 <sub>a</sub>	27
		% entre Ano	14,8%	18,5%	66,7%	100,0%
		% entre SatAcelns	15,4%	9,1%	6,9%	7,9%
	2008	Contagem	5 <sub>a</sub>	16 <sub>a</sub>	50 <sub>a</sub>	71
		% entre Ano	7,0%	22,5%	70,4%	100,0%
		% entre SatAcelns	19,2%	29,1%	19,2%	20,8%
	2009	Contagem	5 <sub>a</sub>	11 <sub>a</sub>	71 <sub>a</sub>	87
		% entre Ano	5,7%	12,6%	81,6%	100,0%
		% entre SatAcelns	19,2%	20,0%	27,3%	25,5%
	2010	Contagem	5 <sub>a</sub>	11 <sub>a</sub>	65 <sub>a</sub>	81
		% entre Ano	6,2%	13,6%	80,2%	100,0%
		% entre SatAcelns	19,2%	20,0%	25,0%	23,8%
	2011	Contagem	7 <sub>a</sub>	12 <sub>a</sub>	56 <sub>a</sub>	75
		% entre Ano	9,3%	16,0%	74,7%	100,0%
		% entre SatAcelns	26,9%	21,8%	21,5%	22,0%
Total	Contagem	26	55	260	341	
	% entre Ano	7,6%	16,1%	76,2%	100,0%	
	% entre SatAcelns	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Cada letra subscrita indica um subconjunto das categorias SatAcelns cujas proporções em cada coluna as letras q se seguem ao valor de contagem **não diferem significativamente entre elas ao nível 0,05**



QuadroA303 - Interação FABRICA * SatAcelns						
Qui²= 73,1; p= 0,000			SatAcelns			Total
			Aceitável	Insatisfatório	Satisfatório	
FÁBRICA	1	Contagem	8 <sub>a</sub>	26 <sub>a</sub>	25 <sub>b</sub>	59
		% entre FABRICA	13,6%	44,1%	42,4%	100,0%
		% entre SatAcelns	30,8%	47,3%	9,6%	17,3%
	2	Contagem	5 <sub>a</sub>	1 <sub>b</sub>	52 <sub>a</sub>	58
		% entre FABRICA	8,6%	1,7%	89,7%	100,0%
		% entre SatAcelns	19,2%	1,8%	20,0%	17,0%
	3	Contagem	4 <sub>a, b</sub>	4 <sub>b</sub>	73 <sub>a</sub>	81
		% entre FABRICA	4,9%	4,9%	90,1%	100,0%
		% entre SatAcelns	15,4%	7,3%	28,1%	23,8%
	4	Contagem	0 <sub>a</sub>	2 <sub>a</sub>	9 <sub>a</sub>	11
		% entre FABRICA	0,0%	18,2%	81,8%	100,0%
		% entre SatAcelns	0,0%	3,6%	3,5%	3,2%
	5	Contagem	0 <sub>a</sub>	3 <sub>a</sub>	20 <sub>a</sub>	23
		% entre FABRICA	0,0%	13,0%	87,0%	100,0%
		% entre SatAcelns	0,0%	5,5%	7,7%	6,7%
	6	Contagem	3 <sub>a</sub>	10 <sub>a</sub>	36 <sub>a</sub>	49
		% entre FABRICA	6,1%	20,4%	73,5%	100,0%
		% entre SatAcelns	11,5%	18,2%	13,8%	14,4%
	7	Contagem	2 <sub>a</sub>	3 <sub>a</sub>	35 <sub>a</sub>	40
		% entre FABRICA	5,0%	7,5%	87,5%	100,0%
		% entre SatAcelns	7,7%	5,5%	13,5%	11,7%
	8	Contagem	4 <sub>a</sub>	6 <sub>a, b</sub>	10 <sub>b</sub>	20
		% entre FABRICA	20,0%	30,0%	50,0%	100,0%
		% entre SatAcelns	15,4%	10,9%	3,8%	5,9%
Total		Contagem	26	55	260	341
		% entre FABRICA	7,6%	16,1%	76,2%	100,0%
		% entre SatAcelns	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
Cada letra subscrita indica um subconjunto das categorias SatAcelns cujas proporções por coluna <b>não diferem significativamente entre elas ao nível 0,05</b>						

QuadroA304- Interação Mês * SatAcelns			SatAcelns			Total
Qui <sup>2</sup> = 16,2 p= 0,806			Aceitável	Insatisfatório	Satisfatório	
Mês	1	Contagem	1 <sub>a</sub>	2 <sub>a</sub>	21 <sub>a</sub>	24
		% entre Mês	4,2%	8,3%	87,5%	100,0%
		% entre SatAcelns	3,8%	3,6%	8,1%	7,0%
	2	Contagem	2 <sub>a</sub>	3 <sub>a</sub>	20 <sub>a</sub>	25
		% entre Mês	8,0%	12,0%	80,0%	100,0%
		% entre SatAcelns	7,7%	5,5%	7,7%	7,3%
	3	Contagem	3 <sub>a</sub>	4 <sub>a</sub>	20 <sub>a</sub>	27
		% entre Mês	11,1%	14,8%	74,1%	100,0%
		% entre SatAcelns	11,5%	7,3%	7,7%	7,9%
	4	Contagem	3 <sub>a</sub>	2 <sub>a</sub>	19 <sub>a</sub>	24
		% entre Mês	12,5%	8,3%	79,2%	100,0%
		% entre SatAcelns	11,5%	3,6%	7,3%	7,0%
	5	Contagem	3 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	18 <sub>a</sub>	26
		% entre Mês	11,5%	19,2%	69,2%	100,0%
		% entre SatAcelns	11,5%	9,1%	6,9%	7,6%
	6	Contagem	5 <sub>a</sub>	7 <sub>a</sub>	21 <sub>a</sub>	33
		% entre Mês	15,2%	21,2%	63,6%	100,0%
		% entre SatAcelns	19,2%	12,7%	8,1%	9,7%
	7	Contagem	1 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	24 <sub>a</sub>	30
		% entre Mês	3,3%	16,7%	80,0%	100,0%
		% entre SatAcelns	3,8%	9,1%	9,2%	8,8%
	8	Contagem	2 <sub>a</sub>	6 <sub>a</sub>	24 <sub>a</sub>	32
		% entre Mês	6,2%	18,8%	75,0%	100,0%
		% entre SatAcelns	7,7%	10,9%	9,2%	9,4%
	9	Contagem	1 <sub>a</sub>	8 <sub>a</sub>	21 <sub>a</sub>	30
		% entre Mês	3,3%	26,7%	70,0%	100,0%
		% entre SatAcelns	3,8%	14,5%	8,1%	8,8%
	10	Contagem	1 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	27 <sub>a</sub>	33
		% entre Mês	3,0%	15,2%	81,8%	100,0%
		% entre SatAcelns	3,8%	9,1%	10,4%	9,7%
	11	Contagem	2 <sub>a</sub>	6 <sub>a</sub>	20 <sub>a</sub>	28
		% entre Mês	7,1%	21,4%	71,4%	100,0%
		% entre SatAcelns	7,7%	10,9%	7,7%	8,2%
	12	Contagem	2 <sub>a</sub>	2 <sub>a</sub>	25 <sub>a</sub>	29
		% entre Mês	6,9%	6,9%	86,2%	100,0%
		% entre SatAcelns	7,7%	3,6%	9,6%	8,5%
Total	Contagem		26	55	260	341
	% entre Mês		7,6%	16,1%	76,2%	100,0%
	% entre SatAcelns		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Cada letra subscrita indica um subconjunto das categorias SatAcelns cujas proporções por coluna não diferem significativamente entre elas ao nível 0,05

QuadroA305 - Interação Semestre * SatAcelns						
Qui <sup>2</sup> = 2,9; p= 0,232			SatAcelns			Total
			Aceitável	Insatisfatório	Satisfatório	
Semestre	OUT/INV	Contagem	11 <sub>a</sub>	22 <sub>a</sub>	134 <sub>a</sub>	167
		% entre Semestre	6,6%	13,2%	80,2%	100,0%
		% entre SatAcelns	42,3%	40,0%	51,5%	49,0%
	PRI/VER	Contagem	15 <sub>a</sub>	33 <sub>a</sub>	126 <sub>a</sub>	174
		% entre Semestre	8,6%	19,0%	72,4%	100,0%
		% entre SatAcelns	57,7%	60,0%	48,5%	51,0%
Total		Contagem	26	55	260	341
		% entre Semestre	7,6%	16,1%	76,2%	100,0%
		% entre SatAcelns	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
Cada letra subscrita indica um subconjunto das categorias SatAcelns cujas proporções por coluna <b>não diferem significativamente entre elas ao nível 0,05</b>						